



Naturalis

Repositorio Institucional
<http://naturalis.fcnym.unlp.edu.ar>

Universidad Nacional de La Plata
Facultad de Ciencias Naturales y Museo



Caracterización cultural, patogénica y bioquímica de *Pyrenophora tritici-repentis* en la Argentina

Moreno, María Virginia

Doctor en Ciencias Naturales

Dirección: Arambarri, Angélica Margarita

Co-dirección: Perelló, Analía E.

Facultad de Ciencias Naturales y Museo
2007

Acceso en:

<http://naturalis.fcnym.unlp.edu.ar/id/20120126000006>



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional



Naturalis

Repositorio Institucional
FCNyM - UNLP

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MUSEO

Caracterización cultural, patogénica y
bioquímica de *Pyrenophora tritici-repentis*
en la Argentina

María Virginia Moreno

Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias Naturales

Director: Dra. Angélica M. Arambarri

Codirector: Dra. Analía E. Pereñó

CENTRO DE INVESTIGACIONES DE FITOPATOLOGIA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y FORESTALES
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

2006

A Sebastián, Theo y el/la que viene

A mis padres

A mis abuelos

- A mis directoras Vasca y Analía, muchas gracias por transmitirme su pasión por la micología y la fitopatología; por su paciencia, consejos y lo más importante por dejarme ser.
 - Al Ingeniero Alippi por mostrarme el mundo de la Fitopatología y por sus charlas.
 - A mis compañeros del CIDEFI por dejarme ser una más entre ellos y por toda la ayuda y paciencia que me han brindado. A Marina por toda su ayuda con el inglés y escucharme más de una vez.
 - A las chicas Cristina, Caro, Ceci, Dani, Maru, Lía, Elena, Eugenia, Nati, Cris C., Nadia, Silvina y Romina por los ALMUERZOS COMPARTIDOS!!!
 - A los chicos Pablo, Pablo, Patricio, Guillermo, David y Luciano por bancarse las charlas de mujeres.
 - Al Señor Oscar Guevara por toda su ayuda incondicional.
 - A Pedro Balatti y Ana Castro por sus consejos.
 - A Nilda, Miguel y la gente de Morfología Vegetal por hacerme sentir de la casa.
 - A las chicas de genética Taqui, Mirna, Erika y Moni por aguantarme durante todo el trabajo de isoenzimas.
 - A Caro y Dani por su ayuda incondicional con los ensayos.
 - A mi familia por estar a mi lado en todo momento.
-

INDICE

RESUMEN	1
SUMMARY	3
INTRODUCCION	5
1. EL CULTIVO DE TRIGO	5
1.1. El cultivo de trigo en la Argentina	6
1.2. Sub-regiones ecológicas de la región triguera argentina	10
2. INTERACCION PATOGENO-HOSPEDANTE	18
2.1. La Mancha Amarilla	20
2.1.1. Importancia económica	22
2.1.2. El agente causal	22
2.1.3. Sintomatología	26
2.1.4. Ciclo de la Mancha Amarilla	27
2.1.5. Control de la Mancha Amarilla	30
3. SITUACION ACTUAL EN LA ARGENTINA	34
HIPOTESIS	36
OBJETIVOS GENERALES	36
METODOLOGIA	37
OBTENCION DE LOS AISLAMIENTOS DE <i>Pyrenophora</i> <i>tritici-repentis</i>	37
4.1. Recolección de las muestras	37
4.2. Aislamiento y determinación del patógeno	38
CAPITULO I CARACTERIZACION IN VITRO DE AISLAMIENTOS ARGENTINOS DE <i>Pyrenophora tritici-repentis</i>	
1. INTRODUCCION	42
2. OBJETIVOS	43
3. METODOLOGIA	44
3.1. Ensayos in vitro	44
3.2. Caracterización macro y microscópica de las colonias	46
3.3. Análisis de los datos obtenidos	48

4. RESULTADOS	50
4.1. Colección de aislamientos de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i>	50
4.2. Caracterización macro y microscópica de las colonias	53
4.3. Similitud entre los aislamientos de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i>	64
5. DISCUSION	68
CAPITULO II CARACTERIZACION DE LA VIRULENCIA DE AISLAMIENTOS ARGENTINOS DE <i>Pyrenophora tritici-repentis</i>.	
1. INTRODUCCION	72
2. OBJETIVOS	74
3. METODOLOGIA	74
3.1. Pruebas de patogenicidad bajo invernáculo	74
3.2. Análisis de los datos	77
4. RESULTADOS	78
4.1. Prueba de patogenicidad 2003	78
4.2. Prueba de patogenicidad 2004	93
5. DISCUSION	108
CAPITULO III CARACTERIZACION DE AISLAMIENTOS ARGENTINOS DE <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> MEDIANTE EL USO DE MARCADORES BIOQUIMICOS	
1. INTRODUCCION	113
2. OBJETIVOS	115
3. METODOLOGIA	115
3.1. Obtención del homogenato	116
3.2. Electroforesis	117
3.3. Tinción de los geles	118
3.4. Análisis de los patrones isoenzimáticos	118
4. RESULTADOS	118
5. DISCUSION	130
DISCUSION GENERAL	135

CONCLUSIONES	141
ANEXO	143
BIBLIOGRAFIA	177

RESUMEN

El trigo es considerado actualmente el principal cultivo a escala mundial. Es una de las especies vegetales más consumidas del mundo junto con el arroz, el maíz y la papa. Una de las enfermedades que afecta a este cultivo es producida por *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs. se la conoce como “mancha amarilla” considerada internacionalmente como la enfermedad del trigo que más se relaciona con las prácticas de laboreo que dejan los restos culturales en la superficie del suelo. El objetivo de este trabajo fue aportar información acerca del patosistema *Triticum aestivum* - *P. tritici-repentis*, en cuanto a conocer la composición de aislamientos del patógeno asociados a cultivos de trigo locales, su caracterización morfobiométrica y bioquímica, su variabilidad patogénica y la respuesta de cultivares frente a la infección del hongo.

En este estudio se generó una colección de 155 aislamientos nativos de *Pyrenophora tritici-repentis*, los cuales fueron caracterizados morfoculturalmente en 44 morfotipos los que se agruparon en ocho grupos a una distancia de similitud del 50%. Para evaluar el espectro de virulencia del total de los aislamientos se realizaron dos pruebas de patogenicidad una en el año 2003 y una en el 2004 sobre cultivares nacionales y extranjeros, determinándose especialización fisiológica para 19 y 33 aislamientos respectivamente. Por otra parte se llevaron a cabo estudios con marcadores de tipo isoenzimáticos, se revelaron el total de los aislamientos bajo el sistema de estearasas, fosfatasas y peroxidasas. Para el primero de ellos se observaron dos alelos con cinco variantes cada uno y para los otros dos un alelo con cinco y cuatro variantes respectivamente. Del análisis de los genotipos se obtuvieron 12 grupos para una distancia genética del 50%. En ninguno de los estudios se

observó correlación entre el comportamiento propio de cada aislamiento y el origen geográfico o de cultivar. Tampoco se observó asociación entre los diferentes caracteres evaluados. Si se observó que 31 grupos de aislamientos a pesar de ser de origen diferente se comportaron de manera similar independientemente del estudio realizado.

SUMMARY

wheat (*Triticum aestivum* L.) is currently considered as one of the most important crops world-wide. It can be affected by several diseases. However, only a limited number of them, like "Tan Spot" produced by *Pyrenophora tritici-repentis* causes serious problems to the crop and may be considered specially.

This disease increased its incidence, prevalence and severity and in the last years in our country and in all the South Cone region.

The aim of this thesis was to study some aspects of the pathosystem wheat-*Pyrenophora tritici-repentis* in order to generate information about the pathogen variability in Argentina.

In this sense, a collection of 155 isolates of the fungi from different wheat cultivars and locations of the argentinian wheat ecological area were obtained. Morphobiometrical, cultural, biochemical and pathogenic characterizations of the isolates collected from wheat leaves were performed. The analysis of data allowed grouped 44 morphotypes of the pathogen in 8 groups with a similarity of 50 %. Pathogenicity tests were performed in years 2003 and 2004 under greenhouse conditions. Physiological specialization to 19 and 33 isolates were respectively determined on a set of differential cultivars that included national and international germplasm according to previous reports. Additionally, isozyme patterns of esterases, phosphatases and peroxidases were used as biochemical markers. Different alleles with different variants each other were determined. Genotype analysis revealed 12 different groups segregated at a genetic distance of 50%.

Correlation between isolates with the geographic origin and / or cultivar provenance was not found. Notwithstanding the different

origin, 31 isolates-groups showed similar behavior independently of the study performed.

INTRODUCCION

1. EL CULTIVO DE TRIGO

Triticum (L.) spp., básicamente es un complejo de especies que se han originado en el Cercano Oriente (Siria y Caucaso), que comprende algunas especies silvestres y otras sólo bajo domesticación (León, 1968; Harlan, 1971).

Al parecer, el trigo, fue una de las primeras plantas cultivadas, encontrándose granos carbonizados de hace 6.700 años, en la localidad de Jarmo, al este de Irak (Heiser, 1990).

El trigo es considerado actualmente el principal cultivo a escala mundial. Es una de las especies vegetales más consumidas del mundo junto con el arroz, el maíz y la papa.

Alrededor del 75% de la producción mundial es consumido por el hombre, constituyendo el 20% de las calorías que requiere la población mundial, y es la materia prima para casi el 40% de los alimentos en el mundo (Wiese, 1977; Rajaram, 2001).

Asimismo, el 15% se utiliza como fuente de forrajes para el ganado, merced a su variedad, distribución, adaptabilidad y productividad en amplias regiones geográficas. Sólo el 10 % se destina a semilla y uso industrial (Tabla 1).

Tabla 1. Producción y destino de trigo a escala mundial.

	Producción (mill. ton)	Consumo humano (%)	Alimento ganadero (%)	Uso industriales y otros (%)
América del Norte	90.6	63.7	26.6	9.7
América Sur	20.8	87.6	2.9	9.5
Europa	184.8	47	38.3	14.7
Asia y Oceanía	246.2	82.2	5.4	12.4
África	14	86	3.9	10.1

CIMMYT, ECONFAO Database, September 2001

Actualmente el trigo ocupa cerca del 20% de la superficie mundial superando a cualquier otro cultivo cerealero. Su producción se concentra en unos pocos países (Argentina, Australia, Canadá, China, Estados Unidos, India, la Unión Europea, Pakistán, Rusia y Turquía) principalmente en el hemisferio norte (80% del total mundial) (Ekboir y Morris, 2001). La producción mundial de trigo se ha duplicado en los últimos 30 años (Tabla 2) y los rendimientos medios mundiales de trigo se encuentran en el orden de los 2.8 Mg/ha (Calderini, 2006). Encabezando la lista por volumen de producción de trigo mundial, se encuentran China, India, Estados Unidos, Rusia, Francia y Canadá, en ese orden. Países latinoamericanos aparecen hasta en el lugar número 14 con Argentina y México en el número 25.

Tabla 2. Producción mundial de trigo en los últimos 30 años.

	Superficie (mill ha)	Rendimiento (ton/ha)	Producción (mill-ton)
América del Norte	33.2	2.7	90.6
América del Sur	8.3	2.5	20.8
Europa	54	3.4	184.8
Asia y Oceanía	99.1	2.5	246.2
Africa	8.9	1.6	146

CIMMYT, ECONFAO Database, September 2001

En el período comprendido entre los años 1970 y 2000 los rendimientos crecieron a una tasa anual de 2.3% mientras que la superficie cultivada se mantuvo estable. El volumen de trigo comercializado es mayor que el de cualquier otro grano (Ekboir y Morris, 2001).

1.1. El cultivo de trigo en la Argentina

El trigo es uno de los cultivos extensivos de mayor importancia en el país por su gravitación tanto en el mercado externo como en el mercado interno, acumulando más de 100 años de cultivo.

En la campaña agrícola 2005/06 se sembraron cerca de 2,0 millones de hectáreas menos que en la campaña anterior (especialmente con trigo). Posteriormente, la falta de lluvias en

el mes de enero complicó el nivel rendimiento. Como resultado, la producción total de granos de la actual campaña estaría entre 70 y 74 millones de toneladas contra 84 millones de la campaña 2004/05. El Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) pronosticó en su informe de febrero un rendimiento total de 12,1 millones de toneladas para la cosecha argentina. Sin embargo, Fuentes privadas locales, estiman una producción de 13,5 millones de toneladas. En la campaña 2004/05 la producción alcanzó a 17,2 millones de toneladas, con un nivel de exportaciones de 10,2 millones. De confirmarse el mencionado volumen de la campaña 2005/06, el monto exportable estaría alrededor de 7,0 millones de toneladas. Brasil, nuestro principal importador, ya adquirió 2,6 millones de toneladas (Fuente: Informe Económico de Coyuntura N° 261. Marzo 2006. Año 24. Sector Agropecuario. Consejo Profesional de Ciencias Económicas de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, ISSN: 0327-8174).

Según datos de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación (SAGPyA) las exportaciones de trigo 2005/2006 totalizaron al 3 de marzo, 5,1 Mt, mostrando una importante caída respecto de los 7,7 Mt vendidas al exterior el año pasado a igual fecha.

Estas cifras reflejan la pérdida de oferta exportadora de nuestro país como consecuencia de la menor producción 2005/2006, que se ubicó en 12 Mt mostrando una caída de 4 Mt respecto del ciclo agrícola anterior. (Fuente: Infocampo. En: www.bccba.com.ar).

La SAGPyA informó que las ventas de trigo para la campaña 2005/06 al 17 de marzo de 2006 totalizaron 5.155.000 millones de toneladas, frente a 7.980.000 millones alcanzados a igual fecha del ciclo anterior (Tabla 3).

Tabla 3. Exportaciones de trigo durante las campañas 2004/05/06.

Destino	2004/05	2005/06
Argelia	350.000	0
Bangladesh	500.000	0
Brasil	2.130.000	2.975.000
Chile	100.000	485.000
Colombia	100.000	300.000
Congo	0	110.000
Cuba	250.000	0
Ecuador	0	225.000
Egipto	1.000.000	0
E. Arabes	600.000	0
Indonesia	180.000	0
Jordania	300.000	0
Kenia	200.000	0
Marruecos	150.000	0
Nigeria	0	25.000
Perú	250.000	360.000
Sri Lanka	350.000	0
Sudáfrica	420.000	225.000
Tanzania	0	25.000
Uruguay	200.000	100.000
Yemen	100.000	0
Otros	800.000	325.000
Total	7.980.000	5.155.000

Cifras en toneladas. Fuente: Estimaciones comerciales. Dirección de Mercados Agroalimentarios

El futuro de esta producción (2005/06) y la participación de América del Sur en los mercados internacionales dependen de la evolución de las ofertas netas de Argentina y Brasil. En la Argentina, el crecimiento de la producción y exportación dependerá de la introducción de nuevos desarrollos tecnológicos. Estos desarrollos son de tres tipos: germoplasma mejorado, técnicas de manejo de cultivo para las zonas en producción y técnicas que permitan expandir la producción a otras nuevas zonas (Ekboir y Morris, 2001).

La aparición en el mercado de materiales nuevos de elevado potencial, de gran difusión en las últimas campañas, conjuntamente con el aumento de prácticas agronómicas tendientes a expresar dichas cualidades (siembra directa, fertilización nitrogenada, uso de micronutrientes, riego y aplicación de reguladores de crecimiento) generan cultivos con expectativas de altos rindes. La combinación de estos factores produce una predisposición mayor al ataque de complejos fúngicos y una reducción de rendimientos muy marcada ante eventuales apariciones de enfermedades.

El manejo de las enfermedades bajo tales condiciones requiere de un conocimiento preciso acerca de las causas que predisponen a las enfermedades, su diagnóstico precoz, y las herramientas que pueden emplearse para reducir las pérdidas a un nivel compatible con las expectativas de rentabilidad de la empresa agropecuaria (Kohli, 1995).

En los últimos años la siembra directa ha hecho desaparecer virtualmente de los campos los arados de reja y las rastras de disco. Fueron reemplazados por máquinas sembradoras capaces de colocar las semillas sobre rastrojos sin roturar, a la profundidad adecuada y con una correcta uniformidad en la distribución (Klein, 2001). Si bien se conocen las potenciales ventajas que otorga este tipo de siembra (como ser: la conservación del suelo, una mayor eficiencia en el uso del agua y ahorro de combustible en las maquinarias), también son renombradas sus desventajas (mayor requerimiento de nutrientes sobre todo los primeros años de instalación de este tipo de laboreo, necesidad de reemplazar las antiguas sembradoras y potencial amenaza de los patógenos de tipo necrotróficos que se encuentran en el rastrojo del cultivo condiciones que favorecen su fase saprofítica perpetuando de esta manera la infección).

Deberá tenerse en cuenta que en el futuro, probablemente habrá una mayor incidencia y severidad de las enfermedades, como consecuencia del incremento generalizado de las precipitaciones que genera problemas a escala mundial provocada por el calentamiento global, que de continuar indefinidamente, podría perturbar significativamente nuestro sistema productivo agrario. En tal sentido debe hacerse notar que los episodios de "La Niña" que afectaron las tres últimas campañas no determinaron años con lluvias notoriamente por debajo de lo normal, sino más bien una desequilibrada distribución estacional de las precipitaciones. Primaveras y veranos con lapsos de sequía han sido sucedidos por

otoños notablemente húmedos, condición que particularmente favorece el período de infección primaria de los patógenos cuya fase saprofítica se desarrolla en el rastrojo del cultivo de trigo.

1.2. Sub-regiones ecológicas de la región triguera argentina.

La región triguera argentina se encuentra ubicada entre los 31° a los 40° Latitud Sur y de los 58° a los 65° Longitud Oeste, abarcando una superficie aproximada de 600.000 km². Comprende las Provincias de Buenos Aires, Córdoba, Santa Fe, Entre Ríos, parte de La Pampa y de Santiago del Estero.

El clima varía entre templado y templado frío con los meses más secos en invierno, incrementándose las lluvias de octubre en adelante coincidiendo con la fase reproductiva del cultivo. Las lluvias son decrecientes de este a oeste de 900 a 500 mm anuales. Entre los 900 y 700 mm anuales se delimita un área definida como húmeda, donde se cultiva un 60-65 % del total del país. En el área restante- al oeste- subhúmeda a semiárida, en la que las lluvias disminuyen a 500 mm anuales, se cultiva el resto, siendo muy reducidas otras áreas de siembra fuera de la región señalada.

Dada la gran extensión del área mencionada, se han determinado diferentes subregiones ecológicas con características particulares para el cultivo de trigo según las condiciones agroclimáticas (Figura 1).

Figura 1. Mapa de las sub-regiones ecológicas de la región triguera argentina.



Sub-región ecológica I

Está ubicada en el Parque Chaqueño. Abarca el extremo norte de la superficie triguera, comprende el centro-norte de Santa Fe y el Depto. cordobés de San Justo, limita al sur con la subregión ecológica II norte, está separada de esta por una línea imaginaria que se inicia en el río Paraná y divide en partes más o menos iguales a los Dptos. de San Jerónimo y San Martín (Santa Fe), para continuar en la Pcia.de Córdoba, siguiendo aproximadamente el límite de separación entre el Depto. de San Justo con los de Unión y Marcos Juárez, hasta encontrarse con la subregión V, parte norte. En el extremo sur de la región se halla la mayor concentración del cultivo, asociada con la alternativa trigo-soja de segunda.

El clima es considerado húmedo-subhúmedo. La temperatura media anual varía entre los 18°-20°C, siendo junio y julio los meses más fríos con temperaturas medias que van de los 12°a 14°C.

La sequía invernal constituye un problema para la zona (con precipitaciones de 20-40 mm en agosto y de 40-50 mm en septiembre), ya que las lluvias para el período crítico del trigo (comienza en agosto con el encañamiento) son relativamente bajas.

En esta subregión se presenta un número importante de adversidades bióticas entre los que se destacan la fusariosis, las manchas foliares, la roya de la hoja y el carbón volador entre las principales enfermedades.

En el contexto nacional esta subregión representa sólo un 4% del volumen y un 5% de la superficie, sus rendimientos son inferiores a la media del país y sus perspectivas de crecimiento son bajas y asociadas al cultivo de soja de segunda.

Sub-región ecológica II

Sub-región ecológica II Norte:

Limita al norte con la subregión I, al este con el río Paraná y al sur con la subregión II Sur, de la que está separada por una línea imaginaria al nordeste del partido de San Pedro atraviesa al mismo por la parte media, en dirección sudeste, prosigue hacia el oeste por la parte norte de Bmé. Mitre, sur de Pergamino y norte de Rojas, continúa por el límite entre Colón y Gral. Arenales, para seguir en Santa Fe, divide al Dpto. de Gral. López, al sur de Venado Tuerto hasta encontrar el límite con la subregión V Norte. Al oeste limita con la subregión V Norte.

En esta subregión la disminución de las precipitaciones (media anual de 20-40 mm), junto con un ambiente más frío y seco a principios de primavera, marca un gradiente para el cultivo de trigo que se manifiesta de este a oeste. La temperatura media anual es de 17-18° C, con una media de 10° C en los meses más fríos (junio y julio). Las lluvias de septiembre (60-70 mm) son bastante adecuadas

para el período crítico del trigo, aunque pueden ser algo deficitarias hacia el oeste.

Las enfermedades fúngicas que se presentan en esta subregión son similares a las mencionadas para la subregión I, mientras que los defectos en la calidad comercial son menos importantes.

Esta subregión históricamente tiene una representatividad aproximada del 18%-19% de la producción, con similar porcentaje en la superficie sembrada, dado que sus rendimientos son semejantes a la media del país o levemente superiores. En la actualidad dicha tendencia se mantiene estable, con una disminución en ambos parámetros.

Sub-región ecológica II Sur:

Incluye 55 partidos y cubre aproximadamente una superficie de 10.000.000 has.

Limita al norte con la subregión II Norte; al este con el Océano Atlántico y los ríos Paraná y Río de La Plata y al sur con la subregión IV, de la que está separada por una línea imaginaria que va desde la Bahía de Samborombón, al sur del partido de Castelli, sigue hacia el oeste hasta llegar al extremo sur del partido de Bolívar y desde ahí sigue al sudoeste hasta la subregión V Sur, en el partido de Guaminí. Al oeste limita con la subregión V Sur.

En esta subregión los partidos más representativos son 25 de Mayo, 9 de julio, Bolívar, Pehuajó, Pergamino y Lincoln.

Respecto al clima, difiere poco de la subregión II Norte, aunque las temperaturas de junio y julio (tanto la mínima como las medias anuales), son menores, (oscilan entre 8° y 10°C), siendo óptimas para el macollaje. En esta zona se presentan heladas que se extienden desde principios de septiembre en el NE hasta principios de octubre en el SO. Las precipitaciones van desde 800 mm en el NE

hasta 700 mm en el SO con una distribución adecuada para el cultivo de trigo.

Esta subregión tiene una representatividad de un 12%, tanto en superficie como en producción, siendo los rendimientos similares al promedio nacional o ligeramente superiores.

Sub-región ecológica III

Abarca exclusivamente la provincia de Entre Ríos.

El clima es templado cálido, pero lo que caracteriza a esta zona es la irregularidad del mismo, (con inviernos que alternan entre secos y lluviosos) lo que sumado a las características del suelo, hace que resulte difícil el laboreo oportuno de la tierra. La temperatura de junio y julio es elevada para un buen macollaje (12°-13°C).

Las precipitaciones predominan en las estaciones intermedias, fines de la primavera y principios de otoño. En septiembre alcanzan valores de 80 mm y aumentan en octubre y noviembre.

Es una región heterogénea, con desniveles que imponen la presencia de cuchillas. Lo que más dificulta el cultivo en esta zona son las características del suelo, por su alto contenido de arcilla que llega hasta el 40% en los primeros 20 cm y aumenta a un 50% a los 40 cm de profundidad.

Las limitantes bióticas son muy similares a las nombradas para la subregión I, en especial la fusariosis. También es muy importante en esta subregión la presencia de malezas.

Su representatividad en cuanto a superficie, producción y rendimiento es escasa (3%).

Sub-región ecológica IV

Es la subregión triguera típica del país. Se extiende por el centro y sur de la Pcia. de Buenos Aires, abarca parte de la depresión del salado, ventania y la parte austral bonaerense.

Hacia el NE se encuentra la zona correspondiente a la depresión del salado, zona netamente ganadera al igual que el norte. (Olavarría, Azul, Tandil y Laprida). Al este se encuentra una zona papera (Balcarce, General Pueyrredón, General Alvarado).

La zona más representativa del cultivo triguero es la del Sur, que comprende los partidos de Tres Arroyos, San Cayetano, Lobería y Necochea, donde la superficie sembrada con trigo cubre más del 20% del total de esos partidos.

El clima es templado frío con inviernos largos y vientos predominantes del sur y sudoeste, que se acentúan en la primavera. Las temperaturas son bajas y las heladas frecuentes, con mínimas absolutas de hasta -10°C . La temperatura media de los meses más fríos (junio y julio) está entre los 7 y 8°C , siendo muy adecuada para el macollaje. Las precipitaciones están entre los 700-800 mm anuales, con una buena distribución para el cultivo, con 80-90 mm en los meses de octubre y noviembre que son claves para el período crítico del cultivo.

Esta subregión aporta el 4%-5% de la producción nacional, con un leve repunte los últimos años, con rendimientos inferiores a la media nacional.

Sub-región ecológica V

Se divide en dos zonas, V Norte y V Sur.

La subregión V Norte comprende el centro y oeste de la Pcia. de Córdoba y se puede considerar marginal para el cultivo de trigo. Se

extiende por el sudeste de Santiago del Estero, centro norte y centro sur de Córdoba, limitando al este con las subregiones II y IV, de las que está separada por una línea imaginaria que parte del extremo sudeste del Dpto. de Rivadavia (Santiago del Estero), continúa en Córdoba con dirección ligeramente sudoeste, pasa por el extremo este del Dpto. de Río Seco, centro de San Justo y continúa por la parte oeste de Unión hasta el de Presidencia Roque Sáenz Peña, por donde prosigue por su parte central hasta llegar cerca del ángulo noroeste de la Pcia. de Buenos Aires. Al norte y oeste sus límites están dados por la zona donde deja de hacerse cultivo de trigo por ser antieconómico y al sur limita con la subregión V Sur, de la que está separada por una línea imaginaria que sigue aproximadamente el norte del Dpto. de General Roca (Córdoba) y termina en la subregión II Norte atravesando el ángulo noroeste del Partido de Gral. Villegas (Buenos Aires).

El clima es de tipo continental, semiárido con una evapotranspiración potencialmente mayor que las precipitaciones. La temperatura media anual varía entre los 17° y 19°C, con valores de 9° a 13°C en los meses de junio y julio. Las lluvias se caracterizan por ser escasas, con inviernos muy secos con promedios de 20 mm mensuales en junio, julio y agosto, prolongándose la sequía al mes de septiembre, en el cual las precipitaciones llegan a 40-50 mm. Se considera que la distribución de las lluvias no es favorable para el cultivo.

La subregión V Sur, limita al norte con la Subregión V Norte, al este con las subregiones II Sur y IV, de las que está separada por una línea imaginaria que parte del extremo noroeste en el partido de Gral. Villegas (Buenos Aires) y se prolonga hacia el sudeste del partido de Guaminí. Desde ahí y con dirección sudeste atraviesa los partidos de Cnel. Suárez, Cnel. Pringles y Cnel. Dorrego. Su límite sudeste es la costa atlántica hasta el partido de

Patagones. Hacia el oeste y sur el límite se pierde en la zona donde el cultivo deja de realizarse por antieconómico.

Es una zona semiárida, con lluvias escasas y muy irregulares en su distribución. Los inviernos son largos, con fríos intensos, con temperaturas mínimas de hasta -15°C que en algunos casos puede llegar a afectar a los trigos en forma significativa. Las temperaturas de junio y julio son de $7-9^{\circ}\text{C}$, adecuadas para el macollaje. Las precipitaciones van desde los 500 a 700 mm anuales. En el mes de octubre (clave por coincidir con el periodo crítico del cultivo), llegan a 60-80 mm pero de junio a agosto no alcanzan a los 20 mm.

Estas subregiones aportan el 23% de la producción nacional, con rendimientos algo inferiores a la media nacional.

De acuerdo a características como producción y riesgo sanitario, la región triguera tradicional puede ser subdividida por una línea imaginaria que cortaría la Pcia. de Buenos Aires de este a oeste a la altura de Castelli, Las Flores, Gral. Alvear, Bolívar y Trenque Lauquen definiendo las que, por convención, se han denominado regiones productoras Norte y Sur (Annone, 2006). A esto se le puede sumar el hecho de las temperaturas medias decrecientes hacia el sur y las menores precipitaciones hacia el oeste, determinando lo que se llama Areas de Riesgo Sanitario Zonal: I) Riesgo moderado-alto (Sudeste de Córdoba); II) Riesgo alto-moderado (Santa Fe, entre Ríos, y norte y centro de Buenos Aires); III) Riesgo moderado-bajo (Sudeste de Buenos Aires) y IV) Riesgo bajo (Centro-oeste y sudoeste de Buenos Aires y este de La Pampa) (Annone, 2004).

2. INTERACCION PATOGENO-HOSPEDANTE

El agroecosistema está constituido por subsistemas entre los que cabe citar al biológico (plantas, animales y patógenos), ambiental (clima, suelo), económico y tecnológico. El entendimiento del sistema agrícola depende fundamentalmente de la comprensión de la interacción existente entre los procesos biológicos y el ambiente físico.

Dentro de un agroecosistema la interacción entre un hospedante vegetal y un parásito que se nutre del mismo provocando una enfermedad, es definido como un patosistema vegetal. Cuando en esta interacción no participa el hombre, el sistema se comporta como autónomo y es estable, debido a la acción de mecanismos de autorregulación que tienden a compensar cualquier tipo de desvíos a partir del equilibrio óptimo. Esta interacción se denomina patosistema natural.

Cuando el hospedante es un cultivar genéticamente uniforme y sembrado en alta densidad (por ejemplo el trigo), el ambiente es el resultado de la arquitectura específica del hospedante, de las prácticas de cultivo adoptadas y de las características del terreno en el que el cultivo se haya implantado. En esas condiciones no existe capacidad de autorregulación y por consiguiente el sistema es inestable (Robinson, 1987; Schreiber, 1987). Esta interacción es denominada patosistema cultural.

En un agroecosistema, el potencial de la producción agrícola es el resultado de la interacción de una serie de factores bióticos y abióticos que incluyen a las enfermedades de las plantas como una de las más importantes limitantes del rendimiento y la calidad de los cultivos (Ivancovich, 1995).

Las enfermedades de la plantas representan uno de los factores bióticos que inducen pérdidas en los cultivos y son una amenaza constante para una producción provechosa. Las patologías de las

plantas se consideran como el resultado de la interacción de tres elementos: un patógeno virulento, un hospedante susceptible y un ambiente favorable. Estos tres elementos conforman el denominado triángulo de la enfermedad.

La labranza del suelo ha cambiado hacia fines del siglo XX, donde la labranza convencional que incorpora rastrojos a 15-20 cm de profundidad fue y está siendo reemplazada por la labranza conservacionista, con rastrojos en superficie que entre otros beneficios, conserva la humedad del suelo, reduce la erosión y reduce los costos de producción (combustibles y maquinaria) (Schreiber, 1987).

Desde la adopción masiva de la siembra directa se conoce que esta promueve el desarrollo de organismos benéficos que cumplen un papel trascendente en el reciclado de los elementos mayores como carbono, nitrógeno y fósforo. Así estos microorganismos han coevolucionado y han desarrollado estrategias de vida según el modo de nutrirse y perpetuarse, como parásitos absolutos y otros como parásitos facultativos. Estos últimos tienen la capacidad de sobrevivir sobre tejidos muertos en su fase saprofítica y modificar sus hábitos cuando se encuentran frente a los tejidos de sus hospedantes específicos y desarrollar su fase patogénica (Annone, 1985).

Los cultivos establecidos bajo este sistema pueden ser afectados por varios organismos fitopatógenos (Tabla 4). La relativamente lenta descomposición de residuos de trigo bajo las condiciones prevalentes en la mayor parte de la región triguera de la Argentina, motiva a que esos restos vegetales colonizados sean potenciales fuentes de inóculo para poder alcanzar al cultivo en años subsiguientes (Annone, 1996).

Tabla 4. Principales parásitos de hábito facultativo del trigo conducido en siembra directa y las enfermedades que ocasionan (Annone y Kohli, 1996).

Etología	Agente causal	Enfermedad
Bacteriosis	<i>Xanthomonas campestris</i> pv <i>undulosa</i>	Estria bacteriana
Micosis	<i>Septoria tritici</i>	Mancha de la hoja
	<i>Drechslera tritici-repentis</i>	Mancha amarilla
	<i>Fusarium graminearum</i>	Fusariosis de la espiga
	<i>Gaeumannomyces graminis</i> var. <i>tritici</i>	Pietín

En la Argentina desde la aplicación de este tipo de manejo la preocupación relevante ha sido la aparición de las manchas foliares del trigo (Annone y coolí, 1996). Entre estas, la Mancha Amarilla (MA) es considerada internacionalmente como la enfermedad del trigo que más se relaciona con las prácticas de laboreo que dejan los restos culturales en la superficie del suelo. Asimismo, ocupa un lugar de importancia por su alto potencial destructivo y amplia distribución en la mayoría de las áreas trigueras del mundo.

2.1. La Mancha Amarilla

La MA fue observada por primera vez sobre trigo a fines de la década del '20 en el Japón (Hosford, 1981). El primer dato que indicó pérdidas graves corresponde a una epifitía ocurrida en Kenia en 1954, causando pérdidas del 75% (Gilchrist et al., 1984). En Estados Unidos la enfermedad fue detectada por primera vez en Nueva York, en 1940 (Barrus, 1942). A partir de 1970 se ha reportado con frecuencia a su agente causal *Pyrenophora tritici-repentis* como un patógeno de importancia principalmente en las áreas trigueras de USA (Dakota del Norte, Nebraska y Kansas) (Sim, et al., 1982; Watkins, et al., 1978). En Canadá el primer registro importante data de 1974 (Conners, 1939; Tekauz, 1976). La MA ha sido también reportada en Australia (Loughman et al., 1998) Asia (Postnifova y Khasanov, 1998), en Pakistan (Ali y Franc1, 2001a) República Checa, Polonia,

Ucrania, Hungría, Francia, Dinamarca y otros países europeos (Sarova et al., 2002).

En América del Sur, Dubin (1983) señaló la enfermedad en Colombia, Ecuador y Perú. También hay antecedentes de su presencia en Argentina, Paraguay, Bolivia y Uruguay. Lindares y da Luz (1994) detectó *P. tritici-repentis* en semillas de trigo obtenidas desde Matto Grosso de Sur (Brasil).

Los primeros registros de ocurrencia de la MA para la Argentina son de la década del '80 y corresponden al área norte de la Pcia. de Buenos Aires (Annone, 1985). En 1994, durante una recorrida de campos organizada por la Asociación Argentina de Productores en Siembra Directa (AAPRESID) se observó la enfermedad en el 90% de los lotes relevados en las localidades de Marcos Juárez, Monte Buey, Bigand, Hughes y Bragado (Reis y Carmona, 1994 datos sin publicar).

Cabe destacar que existen antecedentes que indican que su agente causal, el hongo *P. tritici-repentis*, una vez introducido en un área triguera se convierte en un patógeno dominante a lo largo de los años frente a otros patógenos foliares (Wright y Sutton, 1990). De la integración de valores medios de prevalencia, intensidad de síntomas y efecto potencial sobre los rendimientos surge que la MA es una de las enfermedades de mayor importancia para la región productora Norte junto con la roya de la hoja y la fusariosis de la espiga (Annone, 2006). En esta región los rastrojos del trigo en superficie, los canopeos de baja cobertura, las lluvias de primavera, y en numerosas ocasiones la limitada disponibilidad de nitrógeno (Annone y García, 2004), ofrecen condiciones altamente predisponentes al establecimiento y desarrollo de la MA. De esta manera la enfermedad ha pasado a ser un problema importante en las regiones trigueras no sólo del país, sino también del mundo.

2.1.1. Importancia económica

Los efectos de la MA sobre los rendimientos del cultivo de trigo pueden alcanzar niveles importantes. En Estados Unidos, Hosford y Busch (1974) informaron pérdidas del 12.9%. En el mismo país, Sharp y colaboradores (1976) observaron que bajo condiciones de severos ataques de *P.tritici-repentis*, el peso de 1000 granos de un grupo de cultivares de trigo presentó mermas del 9% al 20%. En Australia, Rees et al. (1982), calcularon que el efecto de esta enfermedad sobre los rendimientos de un cultivar susceptible fue del orden del 50%. Rees y Platz (1983) reportaron pérdidas del 13% al 48%, siendo éstas función de la severidad (% de área foliar lesionada). Por su parte, Mehta y Gaudencio (1991) estimaron que las pérdidas de rendimiento asociadas a la MA en el estado de Paraná (Brasil), eran cercanas al 40%. Kohli et al. (1992) reportaron pérdidas en lotes de producción de trigo de Paraguay y de la Argentina que fluctuaron entre el 20% y el 70%. En un ensayo establecido en el norte de la Pcia. de Buenos Aires se estimó que la enfermedad causó alrededor del 20% de mermas (Annone et al., 1994). Por su parte, Galich y Galich (1994) describieron que las pérdidas causadas por *P. tritici-repentis* asociado a *Septoria tritici* en cultivares de trigo de ciclos cortos y largos en ensayos inducidos en Marcos Juárez (Córdoba) oscilaban entre el 6% y 13%.

2.1.2. El agente causal

Pyrenophora tritici-repentis (Died.) Drechs., agente causal de la Mancha Amarilla (MA) de la hoja del trigo es un hongo de hábito parásito facultativo (saprótrofo) del Phylum Ascomycota, Clase Loculoascomycetes, cuyo anamorfo se corresponde con *Drechslera tritici-repentis* (Died.) Shoem., hongo imperfecto de la clase Hyphomycetes.

Fue aislado por primera vez desde *Agropyron repens* en Alemania, y determinado como *Pleospora trichostoma* por Diecke. En 1928 fue aislado desde trigo por Nisikado, quien lo denominó *Helminthosporium tritici-repentis* (= *Drechslera tritici-repentis*) (Hosford, 1981).

El género *Pyrenophora* Fr. fue citado para varios Ascomycetes parásitos de cereales y otras gramíneas. Fue descrito por Fries en 1849 y citado por Shoemaker en 1961 (Shoemaker, 1962). En 1869, Fuckel señala a *Drechslera* como el estado conidial de *P. phaeomes* (Shoemaker, 1962). En 1883, Saccardo se basó en la presencia (o no) de ascocarpos para diferenciar a *Pyrenophora* de *Pleospora*. No obstante, Winter en 1885 incluye ambos géneros bajo el nombre de *Pleospora* (Shoemaker, 1962). Drechsler (1923) coincide con este último autor e insistió en la conexión entre *Drechslera* y *Pyrenophora* como lo había hecho Fuckel para *P. phaeomes*. Drechsler también determinó las conexiones entre *P. teres* y *D. teres*; *P. tritici-repentis* y *D. tritici-repentis*, y *P. bromi* y *D. bromi* (Shoemaker, 1962). Al mismo tiempo, Ito y Kuribayashi (1931) conectaron cinco especies de *Pyrenophora* con los estados conidiales de *Drechslera*. Finalmente, en 1949, Wehemyer trabajó en la diferenciación entre *Pleospora* y *Pyrenophora* basándose en la forma y el tamaño del ascocarpo (Shoemaker, 1962).

Drechslera fue descrito por Ito (1930). La nomenclatura del género fue revisada por Shoemaker (1959). El género *Helminthosporium* donde fueron incluidas las especies de *Drechslera* fue descrito por Link en 1809. En 1902, Diedicke (Drechsler, 1923) reconoció a *Helminthosporium tritici-repentis* como forma de *H. gramineum*. En 1923, Drechsler reconoció como especies independientes a *H. teres*, *H. bromi*, *H. gramineum* y *D. avenae*. En 1959, Shoemaker realizó la distinción entre los dos subgéneros *Cylindro-Helminthosporium*, en el cual todas las especies tienen conidios que germinan por todas las células y *Eu-Helminthosporium*, en el cual todas las especies tienen conidios fusiformes que germinan sólo por la célula terminal

(Shoemaker, 1962). En 1930, Ito agrupó cinco especies de *Helminthosporium*, incluyendo a *H. tritici vulgaris* bajo el nombre de *Drechslera* para aquellas especies con conidios cilíndricos que germinan por todas las células, usando como tipo a *Drechslera tritici-repentis* y el de *Bipolaris* sp. para las agrupadas en *Eu-Helminthosporium*. Finalmente en 1962, Shoemaker consideró a *Drechslera tritici-vulgaris* como sinónimo de *Drechslera tritici-repentis* (Shoemaker, 1962).

Nomenclatura taxonómica

Teleomorfo:

Pyrenophora tritici-repentis (Died.) Drechs, J. Agr. Research, 24:667. 1923.

≡ *Pleospora tritici-repentis* (Died.), Centr. Bakt. Parasitenk, Abt. 2, 11:56. 1903.

≡ *Pleospora trichostoma* (Fr.) Wint. f. sp tritici-repentis Died., Centr. Bakt. Parasitenk., Abt. 2, 9:329. 1902.

= *Pyrenophora tritici-vulgaris* Dickson, Diseases of Field Crop, ed. 2, Mc Graw-Hill, New York, 1956. P. 247. nom. nud.

Anamorfo:

Drechslera tritici-repentis (Died.) Shoem. Canadian Journal of Botany, 37:880, 1959.

≡ *Helminthosporium tritici-repentis* (Died.) Died.; Centr. Bakt, Parasitenk, Abt. 2, 11:56.1903.

≡ *Helminthosporium graminearum*. Rob. Ex Schlecht. f. sp. tritici-repentis Died, Centr. Bakt. Parasitenk, Abt. 2, 9:329. 1902.

= *Drechslera tritici-vulgaris* (Nisikado), Ito, Proc. Imp. Acad., Tokio, 6-355, 1930.

≡ *Helminthosporium tritici-vulgaris* Nisikado, Ann. Phytopath. Soc. Japan, 2:96. 1928.

Morfología

Los ascocarpos (protopseudotecios) de *Pyrenophora tritici-repentis* son de color marrón oscuro, esféricos a subesféricos, de 400-500 μm de diámetro, lisos. Poseen una prolongación a modo de pico evidente de alrededor de 160 μm de longitud y 120 μm de ancho, donde lleva setas. Estas setas son de 80-120 μ de longitud y 9 μ de ancho basal que gradualmente se va afinando hacia el ápice. Las células de la pared están alineadas longitudinalmente cerca de la base del ascocarpo y continúan hexagonalmente con pseudoparáfisis de 3 μ de ancho hacia el pseudoparénquima apical. Las ascas son bitunicadas, cilíndricas, estrechas hacia la base (165) 185-215 (300) x (39) 45-55 (63) μ , llevando en su interior 8 ascosporas. Las ascosporas son biseriadas en el centro y uniseriadas hacia el ápice, de color marrón amarillento brillante, inmaduras son largas, angostas y escasamente aguzadas a medida que maduran se hinchan las células hemisféricas y tienen una funda hialina de 2-5 μ de ancho. Germinan por cualquiera de sus células. Las ascosporas miden (42) 47-65 (69) x (15) 20-26 (29) μ L/W 2.1-2.6 WP 64:66, y una longitud media de 12-17 μ (Ellis y Waller, 1976)

En cuanto al anamorfo, *Drechslera tritici-repentis* presenta conidióforos solitarios o en grupos de dos a tres, pardo amarillentos, de pared lisa, rectos o moderadamente flexuosos, a veces geniculados, cilíndricos, ligeramente aguzados hacia el ápice y dilatados hacia la base; miden aproximadamente 250 μm de largo y ocasionalmente 400 μm ; de 6-12 μm de ancho, normalmente con una o pocas cicatrices conidiales conspicuas. El primer septo en formarse delimita la que va a comportarse como célula basal en el conidio ya maduro. Hay un incremento en la longitud conidial y junto con este

proceso se engrosan las paredes medias mientras que hacia los extremos se vuelven más finas. El segundo septo en formarse lo hace en la parte media y el tercero en el extremo superior del conidio, el que ya ha desarrollado su longitud definitiva. Los conidios son solitarios rectos a ligeramente curvados, cilíndricos y con un ápice redondeado y cónico característica que les brinda el nombre de “cabeza de cobra” distintivo de esta especie. Son subhialinos de color pardo-rojizos claros, lisos de paredes finas con 1-9 (normalmente 5-7) pseudoseptos. Los conidios maduros generalmente son estrechos en los pseudoseptos, miden de 80-250 μm de longitud y 14-20 μm de ancho en la parte más ancha, hacia la base se estrechan a unos 2-4 μm (Ellis y Waller, 1976; Alcorn, 1983).

2.1.3. Sintomatología

Los síntomas más comunes de esta enfermedad se observaron en hojas y vainas. Aparecen después de la emergencia del trigo, cuando se produce la expansión de la plúmula.

Sobre cultivares susceptibles a la MA, se observan en las hojas características lesiones ovales en forma de ojo. Luego, esas lesiones se alargan y rodean por un halo clorótico con una pequeña mancha marrón más oscura en el sitio de infección. Las áreas cloróticas tienden a elongarse y coalescer sobre hojas altamente infectadas, especialmente en las plantas jóvenes, síntoma que le da el nombre a la enfermedad: “Mancha Amarilla” de la hoja del trigo (Figura 2). Estas lesiones pueden alcanzar 12 mm de tamaño. El borde o halo amarillento es atribuido a la producción de toxinas por el agente causal (Lamari & Bernier, 1989_a).

Figura 2. Síntomas de MA sobre plantas de trigo.



El número de lesiones por hoja es variable. Rees et al., (1982) informaron unas 65 lesiones y Wright y Sutton (1990) unas 30.

Lamari y Bernier (1989_a), identificaron 2 tipos de síntomas diferentes producidos por el patógeno: manchas necróticas y clorosis.

En cultivares parcialmente resistentes, el tamaño de la lesión es menor y la clorosis y/o necrosis pueden estar ausentes (Lamari y Bernier, 1989_{a,b}).

P. tritici-repentis puede también infectar a las semillas durante el período del llenado del grano (Schilder & Bergstrom, 1994). Este desorden provoca un oscurecimiento o manchado rosado porque la semilla infectada se decolora a rosado (Rees y Platz, 1979).

2.1.4. Ciclo de la MA

En cualquier enfermedad infecciosa, se llevan a cabo una serie de eventos sucesivos más o menos distintos que propician el desarrollo y la constancia de la enfermedad y del patógeno. A esta cadena de eventos se la denomina ciclo de la enfermedad. En algunas ocasiones, el ciclo de una enfermedad se encuentra estrechamente relacionado con el ciclo de vida del patógeno, pero cabe señalar que

se refiere fundamentalmente a la aparición, desarrollo y constancia de una enfermedad y no al patógeno mismo. El ciclo de una enfermedad incluye los cambios y síntomas que experimenta una planta, así como los que experimenta el patógeno, y los periodos comprendidos en una estación de crecimiento o al cabo de estaciones de crecimiento consecutivas.

En el caso de las micosis, una parte del ciclo de vida del patógeno está en asociación con el hospedante vivo, causando la enfermedad. Esta fase, denominada patogénesis, coincide generalmente con la etapa de reproducción asexual del patógeno, constituyendo la etapa de infección. La otra fase, denominada saprogénesis, se desarrolla sobre los tejidos muertos del hospedante y coincide con la reproducción sexual del patógeno, constituyendo la etapa de perpetuación del hongo.

Los eventos principales del ciclo de una enfermedad incluyen la inoculación, la penetración, la infección, el crecimiento, la reproducción, la dispersión y la supervivencia del patógeno durante la época de ausencia del cultivo.

El progreso de la enfermedad depende del hospedante, el tiempo y las condiciones del ambiente componentes del patosistema.

En el caso de *P. trititci-repentis* las principales fuentes de inóculo son las semillas, los restos culturales del trigo y otros hospedantes secundarios o alternativos (Figura 3).

Es a través de las semillas que el patógeno es transportado a largas distancias, y por lo tanto, introducido en lugares donde no existía. El patógeno se aloja en el pericarpio como micelio y la transmisión a la plántula no es sistémica (Schilder y Bergstron, 1994). En la Argentina, Barreto (1984, datos sin publicar) registró hasta un 2% de infección en semillas de trigo.

Otra de las fuentes de inóculo es el rastrojo. Muchos investigadores consideran a los restos culturales como la principal fuente de inóculo (Rees y Platz, 1980). El tipo de inóculo en los

restos culturales es la forma perfecta (teleomórfica): *P. tritici-repentis*.

También se considera a otros hospedantes como fuente de inóculo. Dentro del género *Drechslera*, *D. tritici-repentis*, es la especie que posee el mayor rango de hospedantes. Ha sido reportado naturalmente en unas 25 especies, además del trigo. Entre dichas especies pueden citarse: *Agropyron* sp., *Avena fatua*, *A. sativa*, *Echinochloa* sp., *Elymus innovatus*, *Andropogon gerardi*, *Alopecurus arundinaceus*, *Bromus inermis*, *Dactylis glomerata*, *Lolium perenne*, *Phalaris arundinaceae*, *Poa* sp. y *Secale cereale* (Hosford, 1971; Krupinsky, 1992_c; Ali & Franc, 2002_b).

Las ascosporas son generadas en los protopseudotecios formados en los restos culturales de trigo, fundamentalmente en los trozos del tallo. Los conidios pueden formarse en restos del tejido junto a los protopseudotecios, en lesiones de plantas de trigo guacho y en lesiones de otras gramíneas y/o malezas que actúan como hospedantes secundarios. Las ascosporas y los conidios alcanzan los tejidos del trigo principalmente por medio del viento. Estudios llevados a cabo en USA (Schilder y Bergstrom, 1992) han permitido determinar que los conidios pueden ser transportados por el viento hasta 100 metros, en tanto que la dispersión de las ascosporas está limitada a distancias más cortas (0.35-11 metros).

Una vez depositados en la superficie de los órganos verdes necesitan de agua libre para iniciar el proceso de germinación (Mihtra, 1934).

El proceso de infección se inicia con la germinación del conidio, seguido por el alargamiento del tubo germinativo y la formación del apresorio.

Una vez producida la necrosis en las células de la parte central de la mancha, el patógeno empieza a esporular. En consecuencia, la cantidad de inóculo producida aumenta en función

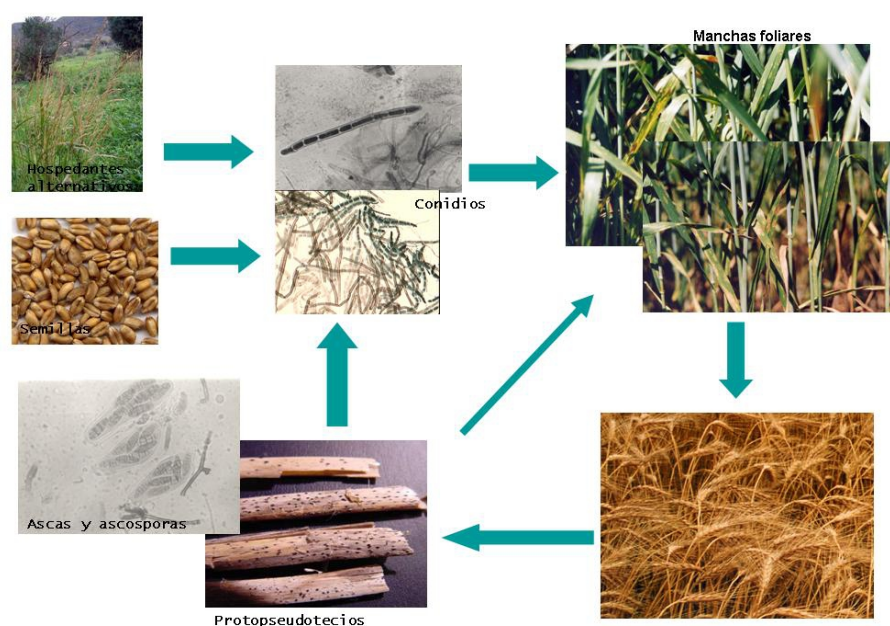
del incremento del área infectada. En el campo, los conidios se encuentran normalmente en las hojas muertas próximas al suelo.

Luego de la aparición de las primeras lesiones foliares y la posterior esporulación del hongo sobre estas, se desarrollan los ciclos secundarios de la enfermedad. En consecuencia, nuevas hojas y nuevas plantas son infectadas, llegando a las hojas superiores e infectando a las semillas.

La esporulación prosigue en los restos culturales después de la cosecha del trigo. La producción de conidios cesa y en función de la temperatura y el potencial hídrico se forman los protopseudotecios. La viabilidad de estos cuerpos fructíferos declina en función de la actividad microbiana y el estado de descomposición del rastrojo (Rees y Platz, 1980).

P. tritici-repentis es un hongo que puede generar inóculo, infectar al trigo y causar lesiones en un rango considerablemente amplio de condiciones ambientales. Estos procesos ocurren normalmente con temperaturas de 10°C a 30°C y períodos de 6 horas a 48 horas de alta humedad relativa (Wiese, 1987).

Figura 3. Ciclo de la MA.



2.1.5. Control de la MA

Desde el punto de vista del desarrollo de la enfermedad, su manejo se logra de diferentes modos: reduciendo o demorando la enfermedad al comienzo de la estación del cultivo o reduciendo su velocidad de desarrollo durante el período de crecimiento del cultivo (Zadoks & Schein, 1979). Estas prácticas contribuyen bloqueando el ciclo de vida de los patógenos, previniendo la introducción de inóculo y eliminando hospedantes susceptibles a determinados patógenos (Palti, 1981).

Las tácticas y estrategias de manejo de la Mancha Amarilla se integran en un nuevo marco conceptual: el Manejo Integrado de Enfermedades, que utiliza los recursos y técnicas en forma racional para permitir la sustentabilidad de la producción agrícola en el tiempo.

Las principales estrategias de control de esta enfermedad están basadas en el control químico, control cultural y búsqueda e incorporación de germoplasma resistente por mejoramiento genético (Carmona, 2006).

En los últimos años se suma el control biológico como alternativa complementaria de bajo impacto ambiental (Annone, 2005; Li y Sutton, 1995; Perelló et al., 2003; Pfender et al., 1989).

Control genético

Para enfermedades como la fusariosis y las manchas foliares el mejoramiento genético ha sido muy difícil; las principales limitaciones hacen referencia a los cambios poblacionales de varios patógenos que desafían todos los años el lanzamiento de nuevos cultivares (Carmona, 2006).

La expresión de la resistencia a patógenos foliares del trigo como *Drechslera tritici-repentis* es de tipo parcial o incompleta (Rees y Platz, 1992). Por lo tanto, los genotipos de mejor comportamiento frente al parásito son aquellos en que los síntomas en las hojas superiores no alcanzan a cubrir más del 20%-30% del área foliar.

Kohli y colaboradores (1992), reportaron la escasez de altos niveles de resistencia a *P. tritici-repentis* en cultivares y líneas de trigo en el Cono Sur y la consistencia de expresión de esa resistencia en los países de la región.

En la Argentina, los cultivares varían entre susceptibles y moderadamente resistentes (Simón, 2006). Se han realizado diversos estudios sobre el comportamiento de cultivares de trigo comerciales frente a *P. tritici-repentis* y se han encontrado de susceptibles a moderadamente susceptibles pero no resistentes (Annone, 1995; Galich y Galich, 1994).

Control químico

Los fungicidas ofrecen una herramienta complementaria a la resistencia genética disponible. Su uso en cultivos bajo siembra directa compensa la falta de protección genética para parásitos facultativos. Los fungicidas son utilizados como curasemillas y/o tratamientos de cobertura con equipos terrestres o aéreos.

Los fungicidas con mayor eficacia para limitar el desarrollo de la MA son: tebuconazol, frutiafol, fluzilazol propiconazol y en menor medida prochloraz redujeron la intensidad de las lesiones con niveles de eficacia de control que fluctuaron entre el 50% y el 70% según cultivar y cantidad de residuos de trigo en superficie (Annone et al., 1994, Carmona, 1996).

Control cultural

Las prácticas culturales modifican el desarrollo de las enfermedades foliares del trigo, en particular las causadas por patógenos facultativos. La MA, representativa de este último grupo de enfermedades, es afectada por prácticas de labranza en casi todas las regiones productoras de trigo del mundo (Mehta y Gaudencio, 1991).

El incremento gradual de la mancha amarilla está relacionado con la expansión de la práctica de labranza cero (Rees y Platz, 1979; Mehta y Gaudencio, 1991; Kohli et al., 1992). Para este tipo de patógeno, la rotación de cultivos tiene un impacto directo en su capacidad de sobrevivir de una campaña a otra. Cuando se entierran los rastrojos o se los deja mineralizar (rotación) se está disminuyendo la capacidad de supervivencia, por lo tanto, habrá menor cantidad de inóculo y como consecuencia, será menor la gravedad de la enfermedad en el cultivo a implantar (Carmona et al., 1999).

La rotación de cultivos y los sistemas de labranza pueden influir sobre la cantidad de inóculo primario proveniente de años anteriores y sobre la velocidad de su incremento. La reducción de inóculo con labranzas se basa en su inactivación por incorporación a capas profundas de suelo, o exposición al calor y sequía en la superficie del mismo (Webster et al., 1976).

Para la región pampeana sur, experiencias en manejo de cultivos muestran que la rotación de los cultivos con los mismos cereales de invierno (avena, trigo y cebada) bajo siembra directa, con un intervalo de uno o más inviernos, fue significativamente eficiente en reducir la incidencia y la severidad de las manchas foliares (Carmona et al., 2001).

Control biológico

Aunque los antecedentes son escasos el empleo de microorganismos para control biológico de enfermedades de la MA filoplano, está documentado (Li y Sutton, 1995; Perelló et al., 2003; Perelló et al., 2006_{a,b}; Pfender et al., 1989).

En Argentina, se ha señalado el empleo de antagonistas que redujeron significativamente la intensidad de la MA, y que exhibieron una fuerte inhibición del crecimiento de *P. tritici-repentis* en ensayos conducidos bajo condiciones de laboratorio, invernáculo y a campo (Alippi et al., 2000; Perelló, 1998; Perelló et al., 2001_{a,b,c}, 2002, 2003, 2006_{a, b}).

3. SITUACION ACTUAL EN LA ARGENTINA

Desde hace algunos años, las enfermedades del trigo ocasionadas por hongos necrótrofos incrementaron considerablemente sus efectos negativos en el cultivo. De esta manera, el actual panorama sanitario de las enfermedades en Argentina es muy diferente al de años atrás debido a que entre otras causas a la expansión del sistema de siembra directa pero sin rotación de cultivos, la difusión de genotipos susceptibles, el uso de semillas infectadas, los cambios climáticos y la poca diversidad de genotipos. Estas razones probablemente contribuyeron al aumento de la presión de inóculo de muchos patógenos, entre ellos *P. tritici-repentis*.

Si bien existe a nivel mundial, especialmente en el hemisferio norte, un alto grado de conocimiento acerca de las características del patógeno y la enfermedad que ocasiona, se carece de información local, donde las condiciones del cultivo y la población del hongo son particulares.

En el patosistema *Triticum aestivum* - *P. tritici-repentis*, es de fundamental importancia conocer la composición de aislamientos del patógeno asociados a cultivos de trigo locales, su caracterización morfolobiométrica y bioquímica, su variabilidad

patogénica y la respuesta de cultivares frente a la infección del hongo. Esta información resulta imprescindible para planificar estudios de manejo integrado de dicha patología.

HIPOTESIS

La composición de los aislamientos de *P. tritici-repentis*, es heterogénea en su virulencia, lo que explicaría en parte los diferentes niveles de respuesta de las variedades de trigo cultivadas en el país en la actualidad.

OBJETIVOS GENERALES

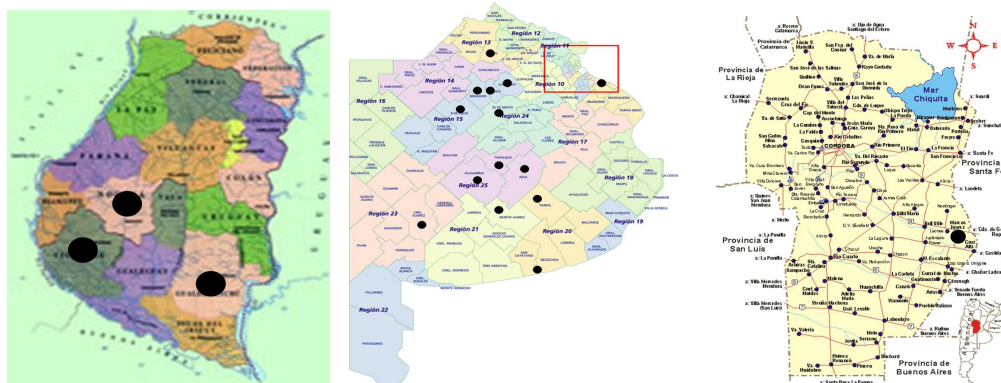
1. Analizar la respuesta de diferentes cultivares/líneas del hospedante (trigo) frente a un amplio espectro de aislamientos del patógeno, obtenidos de las diferentes regiones ecológicas trigueras de la Argentina.
2. Conocer la composición de los aislamientos de *Pyrenophora tritici-repentis* aislados de los cultivos de trigo locales en base a su caracterización morfo-cultural, patogénico y bioquímico a través de patrones isoenzimáticos.
3. Determinar la existencia de especialización fisiológica de *Pyrenophora tritici-repentis* en Argentina.

METODOLOGIA.**OBTENCION DE LOS AISLAMIENTOS DE *Pyrenophora tritici-repentis*****1. Recolección de las muestras**

Para generar una colección de aislamientos nativos de *P. tritici-repentis* se muestrearon al azar plantas de trigo que presentaran los síntomas de la enfermedad. Para ello se realizaron viajes de recolección de material durante las campañas 2000/01/02/03/04. Se recolectaron muestras de hojas de 13 cultivares de trigo (Baguette 10, Buck Biguá, B. Brasil, B. Guapo, B. Mataco, B. Sureño, INTA Tijereta, Klein Chajá, K. Churrinche, K. Don Enrique, K. Escorpión, K. Escudo y K. Zorza) procedentes de campos de producción y estaciones experimentales de una localidad de la provincia de Córdoba (Marcos Juárez), tres localidades de Entre Ríos (Gualeduaychú, Rincón Nogoyá y Victoria) y 19 localidades de la provincia de Buenos Aires (9 de Julio, 25 de Mayo, Alberti, Arrecifes, Arroyo Dulce, Azul, Benito Juárez, Bragado, Chillar, Chivilcoy, Comodoro Py, Coronel Suárez, Los Hornos, Olavarria, Orense, Pergamino, Salto, Tandil y Tapalqué), representando las zonas trigueras: II Norte, II Sur, III, IV y V Norte de la Argentina (Figura 4).

Se observó el material macroscópicamente y se describió el tipo de síntoma. Las muestras se colocaron en bolsas de papel y se conservaron en heladera a 5°C hasta el momento de ser procesadas.

Figura 4. Zonas de recolección de muestras de trigo infectadas con el hongo *P. tritici-repentis* durante las campañas 2000-2004



2. Aislamiento y determinación del patógeno

Los aislamientos del patógeno se realizaron a partir de los siguientes métodos:

- Aislamiento directo

A partir de la zona infectada de la hoja de trigo con presencia de signo se extrajo micelio y/o conidios mediante una aguja previamente flameada y enfriada. Se depositaron sobre el medio de cultivo APG al 2%. Se llevaron a estufa a 24°C. Luego de 3 o 4 días se repicó a tubos pico de flauta y tubos con vaselina líquida para conservar los aislamientos a 5°C hasta el momento de su empleo.

- Aislamiento indirecto

Las hojas con síntomas se cortaron en pequeños trozos con un bisturí, cuidando que cada uno de ellos corresponda a la zona de transición entre la parte sana y la enferma, y eligiendo las lesiones más jóvenes. Se realizó una desinfección superficial con el objetivo de eliminar los organismos saprófitos que dificultarían la obtención de patógenos puros. Para realizar la desinfección se trabajó en Cámara de Flujo Laminar, brindando así un ambiente más

aséptico. Los trocitos, (0.5 a 1cm), se desinfectaron sumergiéndolos sucesivamente en alcohol etílico al 70 % y bicloruro de mercurio al 1/000 durante 1' 30" en cada caso, y a continuación se transfirieron a cajas de Petri conteniendo agua destilada estéril para su lavado durante 3' o más. Luego, previo flameado de la pinza, se transfirieron cinco trocitos por caja de Petri con Agar Papa Glucosado (APG) al 2%. Siempre se trabajó cerca del mechero y flameando la pinza en cada pasaje del material a las distintas cajas, tratando de mantener la mayor asepsia posible para evitar contaminaciones. Se incubaron en estufa a 24°C. Luego de unos días se efectuaron las observaciones y repiques necesarios a tubos con APG. Se mantuvieron al frío (5°C) hasta el momento de su empleo.

Para determinar el patógeno se realizaron observaciones tanto del material proveniente de la parte de las hojas lesionadas con el signo de la enfermedad como de las colonias desarrolladas en APG provenientes de los aislamientos realizados. Para las observaciones directas previamente el material fue colocado en una cámara húmeda, con el propósito de crear condiciones favorables para el rápido desarrollo del hongo cuya presencia no era conspícua. Para la realización de la cámara húmeda se colocó un algodón humedecido en una caja de Petri distribuyendo alrededor del mismo las hojas de trigo evitando el contacto directo con el algodón. Otro tipo de cámara húmeda que se utilizó consistió en colocar el material en una caja de Petri de 9 cm de diámetro sin tapar, que a su vez se colocó dentro de una caja de mayor diámetro (15 cm) cuyo fondo contenía agua.

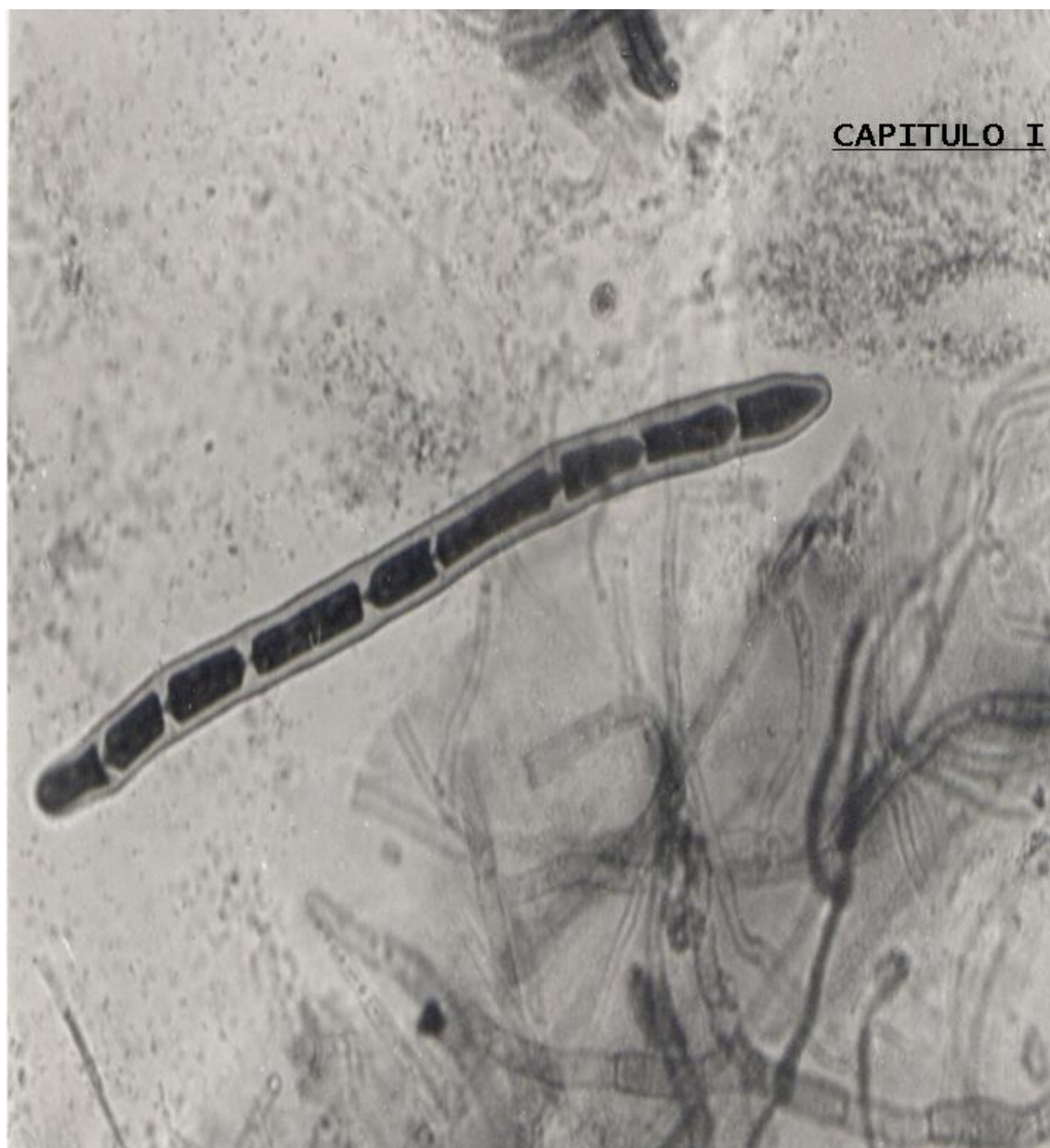
Aproximadamente a las 48 horas, se corroboró la presencia de fructificaciones bajo lupa y mediante la realización de preparados para microscopio óptico.

Asimismo, todos los aislamientos fueron identificados microscópicamente observando el micelio y la forma, el tamaño, el color y el tipo de esporas y/o cuerpos fructíferos producidos. Se

aplicaron técnicas micológicas como microcultivos y montajes de preparados en Lactofenol de Amann o Lactofenol para las observaciones. Este líquido es apropiado para la observación de los conidios de Dtr, ya que se tratan de feoconidios (conidios pigmentados, pardo-amarillentos). En algunos casos se aplicó la técnica propuesta por Raymond y Bockus (1982), para lograr una alta producción de conidios de *P. tritici-repentis*. La determinación taxonómica se realizó en el Centro de Investigaciones de Fitopatología (CIDEFI), Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de La Plata.

Para la obtención de los cultivos monospóricos se sembró un trozo de agar con la colonia en activo crecimiento en una caja de Petri con agar-V8. Se incubó durante 7 días, en cámara de cría a $21^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ y ciclos de 12 horas de luz cercana a la ultravioleta (NUV). Transcurrido este tiempo se procedió a realizar un raspado del micelio superficial con 3 ml de agua destilada estéril para obtener una suspensión de conidios. Se realizaron diluciones de 1:100 y se sembró una anizada en agar agua. Luego se colocaron en cámara de cría durante 3 días. Transcurrido este tiempo cada colonia en forma de arañuela se transfirió a un tubo pico de flauta con agar-v8.

La colección de aislamientos se conservó con tres técnicas distintas: en tubos pico de flauta con agar V8 a 4°C ; como discos de agar con colonia del patógeno en vaselina líquida a 4°C y en trozos de papel de filtro que fueron rociados con una suspensión de conidios obtenida de cada colonia. Estos papeles luego se secaron en la cámara de flujo laminar y se almacenaron en freezer a -20°C . Los aislamientos se conservan en el CIDEFI, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata.



CARACTERIZACION IN-VITRO DE AISLAMIENTOS ARGENTINOS DE
Pyrenophora tritici-repentis.

CAPITULO I

CARACTERIZACION IN-VITRO DE LOS AISLAMIENTOS ARGENTINOS DE
Pyrenophora tritici-repentis.

1. INTRODUCCION

En medio de cultivo artificial la mayoría de los aislamientos de *Drechslera* sp. Presentan sectores pigmentados (Hosford, 1971). Por ello en algunos casos los cultivos in-vitro son una herramienta valorable para distinguir ciertas especies de *Drechslera*, por ejemplo *D. siccans* y *D. dictyoides* (rosa); *D. catenaria* (amarillo); *D. erythrospila* y *D. tritici-repentis* (marrón-rojizo). Otras especies producen penachos por sobre la superficie de crecimiento como *D. avenaceae* y *D. teres*. Hosford (1971) observó que luego de repicar varias veces un cultivo de *D. tritici-repentis* frecuentemente vira dentro de los colores blancos, rojizos, naranjas y disminuye su crecimiento. La producción de estos pigmentos puede producir un efecto negativo (autotóxico) sobre el desarrollo de las colonias y actuar como un autoregulador o inhibidor del crecimiento (Ángstrom et al., 1993). *P. tritici-repentis* es un hongo conocido por la producción de metabolitos secundarios, uno de ellos la catenarina, que manifiesta ciertas propiedades biológicas como las presentes en su fase saprofítica. El nivel de este componente está determinado entre 2-400 ppm y se encuentra en altas concentraciones en aquellos casos donde *P. tritici-repentis* es deficiente en melaninas. Estas cepas libres de melaninas estuvieron libres de pigmento marrón-verdoso y acumularon un pigmento rojizo (Wakulinsky et al., 2003). Las hifas de estas cepas son gruesas y cubiertas en forma abundante con cristales del compuesto. Otros estudios han indicado cierto grado de variabilidad cultural entre los aislamientos de *P. tritici-*

repentis analizados (Ackerman, 1987; Christensen y Graham, 1934; Hosford, 1971; Hunger y Brown, 1987; Wehmeyer, 1954).

Gilchrist y colaboradores (1984), cultivaron aislamientos de *P. tritici-repentis* en Agar-V8 (jugo comercial) y observaron un patrón de crecimiento uniforme, en color y forma de la colonia y en la producción de conidios. Ackerman (1987) analizó cuatro aislamientos y todos presentaron micelio blanco los primeros días de la incubación que fue virando hacia el verde oscuro, verde-blanquecino y grisáceo luego de cinco días de incubación. Hunger y Brown (1987) estudiaron en detalle las características culturales de aislamientos monóspóricos de ascosporas provenientes de Canadá. Observaron colonias blancas y grisáceas provenientes de ascosporas tomadas de la misma asca. Todas las colonias presentaron el mismo patrón de crecimiento pero las más claras tenían una mayor extensión hifal que las oscuras. Christensen y Graham (1934) señalaron que *P. tritici-repentis* (*H. gramineum*) posee varias razas culturales y patogénicas según se distingan los biotipos por sus características de cultivo in-vitro.

En Argentina los aislamientos de *P. tritici-repentis* no han sido analizados morfoculturalmente.

2. OBJETIVOS

- Obtener una colección de aislamientos de *P. tritici-repentis* provenientes desde diferentes cultivares de trigo y zonas trigueras de la Argentina.
- Caracterizar la composición de los aislamientos de *P. tritici-repentis* bajo condiciones de laboratorio.

3. METODOLOGIA

3.1. Ensayos in-vitro

Para la caracterización de los aislamientos se realizaron cuatro tratamientos:

Tratamiento I (TI): las cajas de Petri con APG al 2% sembradas con el patógeno se llevaron a cámara de cría a $21^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$, con secuencia de 12 hs luz-oscuridad, durante 7 días.

Tratamiento II (TII): Idem I pero a oscuridad continua, durante 7 días.

Tratamiento III (TIII): las cajas de Petri con medio V-8 sembradas con el inóculo del patógeno se llevaron a cámara de cría a $21^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$, con secuencia de 12 hs luz-oscuridad, durante 7 días.

Tratamiento IV (TIV): Idem III pero a oscuridad continua, durante 7 días.

Para contar con inóculo inicial se sembraron cajas de Petri “madres” para cada aislamiento a analizar. De cada una de ellas se tomaron con un sacabocados previamente flameado, discos de 6mm de diámetro del margen en activo crecimiento y se sembraron 2 cajas de Petri por aislamiento para cada uno de los tratamientos. Se utilizó el método de siembra en un punto, colocando en el centro de la caja con el medio de cultivo solidificado, un disco o trocito de colonia.

3.1.1. Medios de cultivo utilizados

Los medios de cultivos artificiales utilizados fueron agar de papa glucosado al 2% (APG), y agar V-8 (jugo comercial).

- Agar de papa glucosado (APG):

Glucosa-----20 gramos.

Agar-----20 gramos.

Papas peladas y cortadas-----200 gramos.

Agua destilada estéril-----1000 cm³

- Agar V-8:

Jugo vegetal V-8-----200 ml.

CO₃Ca-----3 gramos.

Agar-----20 gramos.

Agua destilada estéril-----800 ml.

Los medios de cultivo se esterilizaron en autoclave a 1atm. de presión, a 120°C durante 20'.

3.1.2. Técnica de esporulación para *Pyrenophora tritici-repentis*

Se siguió la técnica de Raymond y Bockus (1982). Se sembró el inóculo proveniente de los aislamientos obtenidos en activo crecimiento en APG 2%, sobre agar V8. Estas cajas se incubaron en cámara de cría bajo las siguientes condiciones 21°C ± 1°C y ciclos de 12 horas de luz cercana al ultravioleta (NUV) durante 5 ó 6 días. Transcurrido este tiempo se procedió a realizar un raspado del micelio superficial a una distancia de 1 cm del punto de siembra. El raspado se llevó a cabo con el borde de un portaobjeto, previamente flameado y tibio. Luego se incubaron durante 24 hs bajo NUV. Realizado este shock de luz, las colonias se incubaron 24 hs más, pero esta vez en oscuridad para lo cual se envolvieron las cajas con papel de aluminio. Para comprobar la esporulación se realizaron preparados que se observaron en microscopio óptico. Se extrajeron las muestras del anillo más externo con una aguja previamente flameada.

3.1.3. Hematocitómetro de Neubauer

Para el conteo de propágulos del hongo se utilizó el hematocitómetro. Consiste en una lámina de cristal de una dimensión

aproximada a la de un portaobjetos, pero de mayor grosor. Tiene ranuras en forma de H, con rieles a cada lado que sostienen un cubreobjeto grueso especial a una distancia de 0,1 mm por encima de las dos porciones interiores de la H, que forman dos cámaras entre éstas y el cubreobjeto. El cubreobjeto es grueso para impedir que se hunda al centro en su parte no sostenida. El fondo de cada una de las cámaras tiene un rayado de Neubauer de 9 mm² (3 mm por lado) dividido en 9 cuadrados principales de 1mm por lado, de los cuales se cuenta arbitrariamente el contenido de cinco, para calcular la concentración de propágulos cuando estos son relativamente grandes. En este caso se multiplica la suma de los cuadrados por 2.000. Cuando los propágulos son pequeños se usa el cuadrado principal que esta dividido en 25 cuadrados secundarios de 0,2 mm por lado, cada uno de los cuales esta dividido en 16 cuadrados menores de 0,05 mm por lado. La concentración se calculó multiplicando el número de propágulos en el cuadrado principal por 10.000 o contando los propágulos en cinco de los cuadrados secundarios y a la suma de estos multiplicarla por 50.000 para obtener la concentración en número de propágulos/ml.

3.2. Caracterización macro y microscópica de las colonias.

En todos los aislamientos al séptimo día de incubación se observó el color de la de la colonia, (Rayner, 1970). También se observaron el aspecto (densa, penacho o pelusa) (Negroni, 1938), la forma (circular o filamentosa), la superficie (lisa, rugosa o en anillos concéntricos) y el borde (entro o filamentoso) de la colonia; el desarrollo del micelio aéreo abundante, moderado o escaso) (Garrasini, 1958) y la presencia de protoprotopseudotecios y el desarrollo de los mismos.

En cuanto a los caracteres microscópicos de la fase asexual se observó la longitud conidial y el número de septos por conidio (se observaron 100 conidios por aislamiento). Para las mediciones micrométricas se utilizó un micrómetro ocular.

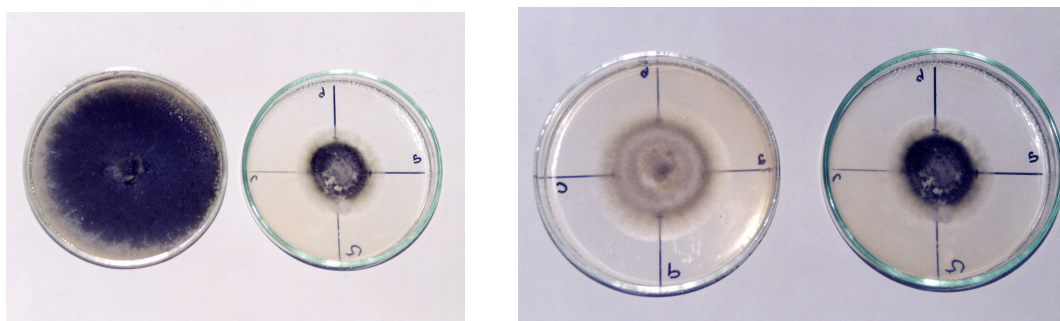
3.2.1. Ritmo promedio de crecimiento

En toda determinación del ritmo promedio de crecimiento (RPC), es importante que se establezca el crecimiento intrínseco del hongo antes de marcar el comienzo de la extensión a medir, por lo que cada aislamiento del hongo se sembró a partir de los márgenes de las colonias madres que crecieron bajo las mismas condiciones.

Para determinar el RPC del patógeno, primero se dibujó sobre el envés de las cajas de Petri una cruz marcando el centro, con tinta indeleble. Se identificó cada caja con un número, tipo de tratamiento y aislamiento correspondiente. También en el envés se dibujaron los 4 (cuatro) radios y se identificaron con una letra (a, b, c y d).

Se sembró un disco de 0.6 mm de diámetro en el centro de la Caja de Petri y se incubó hasta que se observó un avance definido del hongo. En ese momento se procedió a marcar el punto de avance sobre los cuatro radios marcados en la caja y se dió inicio al estudio del crecimiento (Figura 5). Se realizó a intervalos de 24 hs. durante 7 días. Estos valores permitieron realizar una curva de crecimiento para cada uno de los aislamientos en cada tratamiento. El RPC se calculó dividiendo el incremento total por el tiempo.

Figura 5. Cultivos de *P. tritici-repentis* para medir el RPC.



3.2.2. Producción de conidios

Se colocaron 2ml de agua destilada estéril por caja de Petri y se raspó el micelio superficial para lograr una suspensión. Con una pipeta delgada se tomó una muestra de la suspensión y se depositó a la ranura del centro del margen de una de las cámaras donde fue absorbida por capilaridad. Se montó al microscopio y se procedió a realizar el conteo de la concentración de esporas en el cuadrado principal. Se diseñó una escala para un mejor manejo estadístico de los resultados:

- 0 = ausencia de conidios
- 1 = Escasa producción (10.000c/ml)
- 2 = Moderada producción (20.000-40.000c/ml)
- 3 = Alta producción (+ de 40.000c/ml)

3.3. Análisis de los datos obtenidos.

Se contabilizó en número y porcentaje de aislamientos para cada una de las características analizadas por aislamiento por tratamiento.

A partir de los datos del RPC, se graficaron curvas de crecimiento para los distintos aislamientos bajo las diferentes condiciones impuestas y se establecieron patrones de crecimiento.

Se realizó un análisis de la varianza a fin de identificar diferencias significativas entre los aislamientos de *P. tritici-repentis* en cada uno de los tratamientos.

Para determinar la existencia de algún tipo de asociación entre el grado de esporulación y el RPC se realizó una regresión lineal simple, cuya fórmula es $y=a+b.x$.

donde y = el grado de esporulación y x = RPC.

Se realizó un análisis de similitud entre los aislamientos de *P. tritici-repentis* bajo el TIII ya que es el más usado en el cultivo in vitro del patógeno. Asimismo, se seleccionaron aquellos caracteres que se consideraron más estables frente a las condiciones de cultivo impuestas (número de septos por conidio, longitud de los conidios, grado de esporulación y RPC). Cada uno de estos caracteres se codificó a doble estado presencia/ausencia (Nºde septos/conidio: 4-6 y 7-9; longitud de los conidios: 100-149 μm y 150-199 μm ; grado de esporulación: 0, 1, 2 y 3 y RPC: 0-0.49 cm, 0.50-0.99 cm y 1-1.49 cm). Se generó una matriz con variables binarias utilizando el coeficiente de Jaccard (Sneath y Sokal, 1973). Este coeficiente pondera doblemente la presencia de características coincidentes permitiendo una mejor diferenciación de individuos de baja similaridad. Sus valores varían entre 0 (mínima similitud) y 1 (máxima similitud).

$$\text{Coeficiente de Jaccard} = \frac{a}{a+b+c}$$

Donde a (1,1), es el número de caracteres en los cuales el mismo estado es compartido por los aislamientos; b (1,0), es el número de caracteres presente para un aislamiento x y ausente para un aislamiento y ; y c (0,1) es el número de caracteres ausente para un aislamiento x y presente para un aislamiento y .

Se representaron gráficamente mediante un dendrograma que se construyó mediante el método UPGMA (agrupamiento promedio no ponderado de las medias aritméticas) con el paquete estadístico NTSYS 2.1 (Rohlf, 1998).

4. RESULTADOS

4.1. Colección de aislamientos de *P. tritici-repentis*.

A partir del material recolectado se obtuvieron 155 aislamientos monospóricos. Dos aislamientos de la subregión V Sur; dos aislamientos de la subregión V Norte; 35 aislamientos de la región IV; 43 aislamientos de la región III y 17 y 56 aislamientos de las subregiones II Norte y II Sur respectivamente (Tabla 5).

Para la conservación de los aislamientos, el método más efectivo fue el de la vaselina líquida ya que los aislamientos se han conservado en buen estado hasta la actualidad. La conservación en tubos picos de flauta es efectiva pero muy trabajosa y se corren riesgos de contaminación y la conservación en papel de filtro sólo permitió recuperar un 35% del total de los aislamientos sin contaminación.

Tabla 5. Aislamientos de *P. tritici-repentis* obtenidos a partir de hojas de trigo infectadas.¹

Nº AISLAM	NOMENCLATURA	LOCALIDAD	CULTIVAR	ZONA TRIGUERA	AÑO
A1	CP021	Comodoro Py	Baguette 10	II Norte	2002
A2	OL022	Olavaria	Klein Don Enrique	IV	2002
A3	TA022	Tandil	Baguette 10	IV	2002
A4	AZ021	Azul	Klein Don Enrique	IV	2002
A5	AZ023	Azul	Klein Don Enrique	IV	2002
A6	AZ024	Azul	Klein Don Enrique	IV	2002
A7	O001	Orense	Buck Sureño	IV	2000
A8	O0020	Orense	Buck Sureño	IV	2000
A9	O0012	Orense	Buck Sureño	IV	2000
A10	O0014	Orense	Buck Sureño	IV	2000
A11	O0019	Orense	Buck Sureño	IV	2000
A12	O0017	Orense	Buck Sureño	IV	2000
A13	O0015	Orense	Buck Sureño	IV	2000
A14	P021	Pergamino	Klein Don Enrique	II Norte	2002
A15	P022	Pergamino	Klein Don Enrique	II Norte	2002
A16	P023	Pergamino	Klein Don Enrique	II Norte	2002
A17	P026	Pergamino	Klein Don Enrique	II Norte	2002
A18	P027	Pergamino	Klein Don Enrique	II Norte	2002
A19	P028	Pergamino	Klein Don Enrique	II Norte	2002
A20	P031	Pergamino	Klein Don Enrique	II Norte	2003
A21	P032	Pergamino	Klein Don Enrique	II Norte	2003
A22	P0313	Pergamino	Klein Don Enrique	II Norte	2003
A23	CK032	Alberti	Klein Escudo	II Sur	2003
A24	CK033	Alberti	Klein Escudo	II Sur	2003
A25	CK034	Alberti	Klein Escudo	II Sur	2003
A26	S031	Salto	Klein Escorpión	II Norte	2003
A27	S032	Salto	Klein Escorpión	II Norte	2003
A28	CH0313	Chivilcoy	Klein Escorpión	II Norte	2003
A29	MJ032	Marcos Juárez	Klein Escorpión	V Norte	2003
A30	AD031	Arroyo Dulce	Baguette 10	II Norte	2003
A31	9J031	9 de Julio	Klein Escorpión	II Sur	2003
A32	9J032	9 de Julio	Klein Escorpión	II Sur	2003
A33	ARR031	Arrecifes	Buck Mataco	II Norte	2003
A34	ARR034	Arrecifes	Buck Mataco	II Norte	2003
A35	ARR035	Arrecifes	Buck Mataco	II Norte	2003
A36	25M031	25 de Mayo	Buck Mataco	II Sur	2003
A37	25M032	25 de Mayo	Buck Mataco	II Sur	2003
A38	25M033	25 de Mayo	Buck Mataco	II Sur	2003
A39	25M034	25 de Mayo	Buck Mataco	II Sur	2003
A40	25M035	25 de Mayo	Buck Mataco	II Sur	2003
A41	25M036	25 de Mayo	Buck Mataco	II Sur	2003
A42	25M037	25 de Mayo	Buck Mataco	II Sur	2003
A43	H0124	Los Hornos	Buck Brasil	II Sur	2001
A44	H0100	Los Hornos	Buck Brasil	II Sur	2001
A45	H0110	Los Hornos	Buck Brasil	II Sur	2001
A46	H0113	Los Hornos	Buck Brasil	II Sur	2001
A47	H0114	Los Hornos	Buck Brasil	II Sur	2001
A48	H0115	Los Hornos	Buck Brasil	II Sur	2001
A49	H003	Los Hornos	Buck Brasil	II Sur	2000
A50	H006	Los Hornos	Buck Brasil	II Sur	2000
A51	H008	Los Hornos	Buck Brasil	II Sur	2000
A52	H0011	Los Hornos	Buck Brasil	II Sur	2000
A53	H0014	Los Hornos	Buck Brasil	II Sur	2000
A54	H0017	Los Hornos	Buck Brasil	II Sur	2000
A55	H0019	Los Hornos	Buck Brasil	II Sur	2000
A56	BJ0011	Benito Juárez	Klein Don Enrique	IV	2000
A57	CS002	Coronel Suárez	Klein Don Enrique	V Sur	2000
A58	A021	Alberti	Klein Escudo	II Sur	2002
A59	CH002	Chillar	Klein Don Enrique	IV	2000
A60	CH004	Chillar	Klein Don Enrique	IV	2000

A61	CH005	Chillar	Klein Don Enrique	IV	2000
A62	CH006	Chillar	Klein Don Enrique	IV	2000
A63	CH007	Chillar	Klein Don Enrique	IV	2000
A64	CH008	Chillar	Klein Don Enrique	IV	2000
A65	CH009	Chillar	Klein Don Enrique	IV	2000
A66	T006	Tapalqué	Klein Don Enrique	IV	2000
A67	T0012	Tapalqué	Klein Don Enrique	IV	2000
A68	T0017	Tapalqué	Klein Don Enrique	IV	2000
A69	N021	Rincón Nogoyá	Baguette 10	III	2002
A70	N022	Rincón Nogoyá	Baguette 10	III	2002
A71	V021	Victoria	Baguette 10	III	2002
A72	V022	Victoria	Baguette 10	III	2002
A73	V0212	Victoria	Baguette 10	III	2002
A74	V0214	Victoria	Baguette 10	III	2002
A75	B022	Bragado	Klein Escorpión	II Sur	2002
A76	B023	Bragado	Klein Escorpión	II Sur	2002
A77	B025	Bragado	Klein Escorpión	II Sur	2002
A78	B026	Bragado	Klein Escorpión	II Sur	2002
A79	B029	Bragado	Klein Escorpión	II Sur	2002
A80	G031	Gualeguaychú	Baguette 10	III	2003
A81	G032	Gualeguaychú	Baguette 10	III	2003
A82	G035	Gualeguaychú	Baguette 10	III	2003
A83	G036	Gualeguaychú	Buck Biguá	III	2003
A84	G037	Gualeguaychú	Buck Biguá	III	2003
A85	G038	Gualeguaychú	Buck Biguá	III	2003
A86	G039	Gualeguaychú	Buck Biguá	III	2003
A87	G0310	Gualeguaychú	Buck Mataco	III	2003
A88	G0311	Gualeguaychú	Buck Mataco	III	2003
A89	G0312	Gualeguaychú	Buck Mataco	III	2003
A90	G0313	Gualeguaychú	Buck Mataco	III	2003
A91	G0315	Gualeguaychú	Buck Guapo	III	2003
A92	G0316	Gualeguaychú	Buck Guapo	III	2003
A93	G0317	Gualeguaychú	Buck Guapo	III	2003
A94	G0318	Gualeguaychú	Buck Guapo	III	2003
A95	G0319	Gualeguaychú	Buck Guapo	III	2003
A96	G0321	Gualeguaychú	Klein Chajá	III	2003
A97	G0322	Gualeguaychú	Klein Chajá	III	2003
A98	G0323	Gualeguaychú	Klein Chajá	III	2003
A99	G0324	Gualeguaychú	Klein Chajá	III	2003
A100	G0325	Gualeguaychú	Klein Zorzal	III	2003
A101	G0326	Gualeguaychú	Klein Zorzal	III	2003
A102	G0327	Gualeguaychú	Klein Zorzal	III	2003
A103	G0328	Gualeguaychú	Klein Zorzal	III	2003
A104	G0329	Gualeguaychú	Klein Zorzal	III	2003
A105	G0330	Gualeguaychú	Klein Zorzal	III	2003
A106	G0331	Gualeguaychú	INTA Tjereta	III	2003
A107	G0332	Gualeguaychú	INTA Tjereta	III	2003
A108	G0334	Gualeguaychú	Klein Churrinche	III	2003
A109	G0336	Gualeguaychú	Klein Zorzal	III	2003
A110	TA024	Tandil	Baguette 10	IV	2002
A111	O008	Orense	Buck Sureño	IV	2000
A112	V025	Victoria	Baguette 10	III	2002
A113	V024	Victoria	Baguette 10	III	2002
A114	BJ00	Benito Juárez	Klein Escorpión	IV	2000
A115	TA021	Tandil	Baguette 10	IV	2002
A116	CS001	Coronel Suárez	Klein Don Enrique	V Sur	2000
A117	A029	Alberti	Klein Escudo	II Sur	2002
A118	B021	Bragado	Klein Escorpión	II Sur	2002
A119	V0213	Victoria	Baguette 10	III	2002
A120	A0210	Alberti	Klein Escudo	II Sur	2002
A121	AZ022	Azul	Klein Don Enrique	IV	2002
A122	H021	Los Hornos	Buck Brasil	II Sur	2002
A123	T009	Tapalqué	Klein Don Enrique	IV	2000
A124	T008	Tapalqué	Klein Don Enrique	IV	2000

A125	T001	Tapalqué	Klein Don Enrique	IV	2000
A126	H004	Los Hornos	Buck Brasil	II Sur	2000
A127	H0018	Los Hornos	Buck Brasil	II Sur	2000
A128	O0011	Orense	Buck Sureño	IV	2000
A129	BJ0012	Benito Juárez	Klein Don Enrique	IV	2000
A130	H007	Los Hornos	Buck Brasil	II Sur	2000
A131	H0012	Los Hornos	Buck Brasil	II Sur	2000
A132	H001	Los Hornos	Buck Brasil	II Sur	2000
A133	G034	Gualeguaychú	Baguette 10	III	2003
A134	G0300	Gualeguaychú	Baguette 10	III	2003
A135	G0333	Gualeguaychú	Klein Churrinche	III	2003
A136	G0320	Gualeguaychú	Klein Chajá	III	2003
A137	MJ031	Marcos Juárez	Klein Escorpión	V Norte	2003
A138	B033	Bragado	Klein Escorpión	II Sur	2003
A139	B0210	Bragado	Klein Escorpión	II Sur	2002
A140	B027	Bragado	Klein Escorpión	II Sur	2002
A141	B024	Bragado	Klein Escorpión	II Sur	2002
A142	H0119	Los Hornos	Buck Brasil	II Sur	2001
A143	H0120	Los Hornos	Buck Brasil	II Sur	2001
A144	B028	Bragado	Klein Escorpión	II Sur	2002
A145	H016	Los Hornos	Buck Brasil	II Sur	2001
A146	H013	Los Hornos	Buck Brasil	II Sur	2001
A147	H012	Los Hornos	Buck Brasil	II Sur	2001
A148	H015	Los Hornos	Buck Brasil	II Sur	2001
A149	H0111	Los Hornos	Buck Brasil	II Sur	2001
A150	O0018	Orense	Buck Sureño	IV	2000
A151	CH0010	Chillar	Klein Don Enrique	IV	2000
A152	C041	Alberti	Klein Don Enrique	II Sur	2004
A153	C042	Alberti	Klein Don Enrique	II Sur	2004
A154	C043	Alberti	Klein Don Enrique	II Sur	2004
A155	FH041	Los Hornos	<i>Festuca</i> sp	II Sur	2004

4.2. Caracterización macro y microscópica de las colonias

A partir de lo observado en la Tabla 6 del Anexo, Las colonias desarrolladas sobre APG 2% por los 155 aislamientos, (tanto en el TI como en el TII), presentaron un color olivaceus que predominó en un 70.97% en TI y en un 69.03% en TII (Anexo Tabla 6) (Rayner, 1970). Sobre agar v8 y bajo las dos condiciones lumínicas impuestas los colores fueron más claros. En su mayoría correspondieron al salmon, rosy buff, greenish olivaceus, buff y lavender grey, siendo estos dos últimos los más observados para ambos tratamientos. El único color compartido por los cuatro tratamientos fue el greenish olivaceus. sólo el aislamiento BJ0012 mantuvo el color independientemente del tratamiento bajo el que desarrolló (Figuras 6 y 7).

Figura 6. Diferentes colores desarrollados por los aislamientos de *P. tritici-repentis*, según la carta de colores de Rayner (1970).

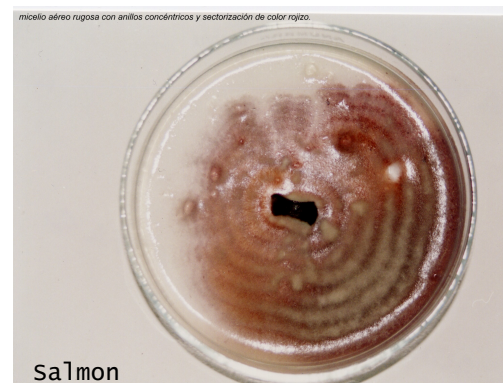
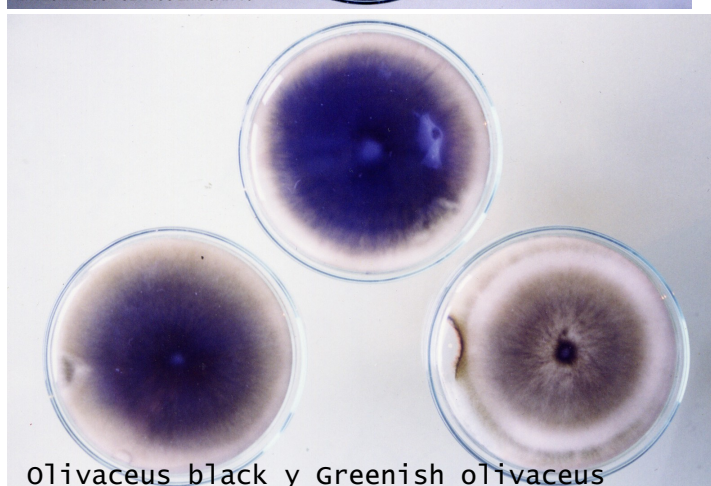
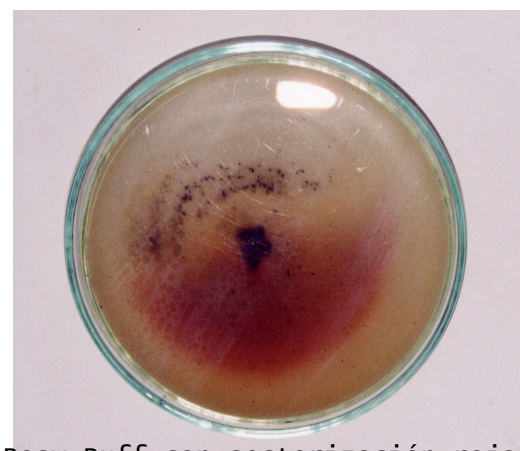
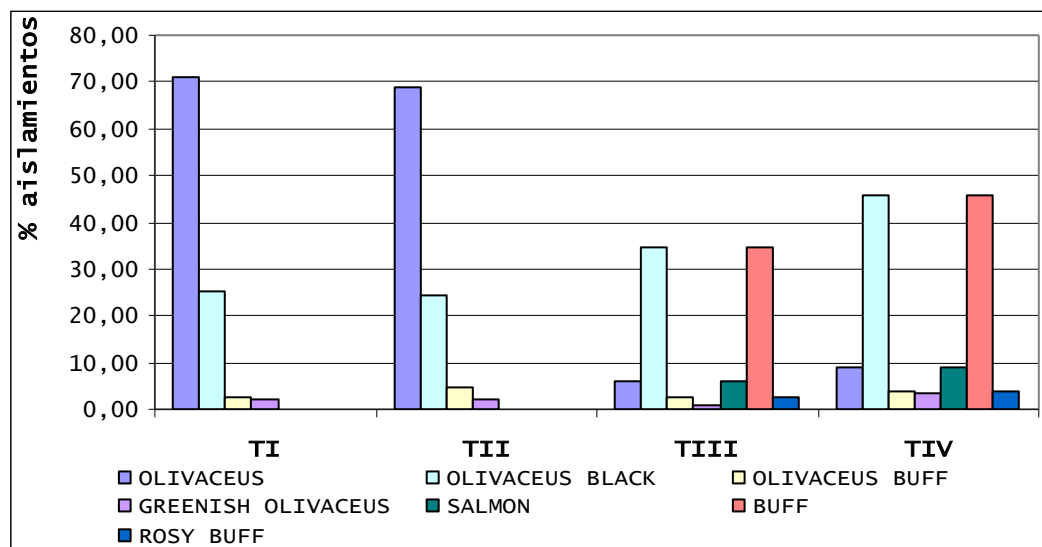


Figura 7. Porcentaje de aislamientos de *P. tritici-repentis* de acuerdo al color que desarrollaron sus colonias bajo los diferentes tratamientos.



Tratamientos I: APG al 2% con secuencia de 12 hs luz-oscuridad, durante 7 días. II: APG al 2% a oscuridad continua, durante 7 días. III: agar V8, con secuencia de 12 hs luz-oscuridad, durante 7 días. IV: agar V8, a oscuridad continua, durante 7 días.

En algunos aislamientos se observó una coloración extremadamente roja. (Figura 8).

Figura 8. Coloración rojiza en aislamientos de *P. tritici-repentis*



Respecto a las características macroscópicas de las colonias, se observó que la superficie en su mayoría fue lisa, según la definición de Garrasini (1958) (superficie plana). En el tratamiento III la mayoría presentó una superficie con anillos concéntricos, lo que se relaciona con la exposición a ciclos alternados de luz-oscuridad y el medio de cultivo utilizado (agar V8), condiciones bajo las cuales los aislamientos produjeron conidios (Figuras 9 y 10).

Figura 9. Diferentes superficies desarrolladas por los aislamientos de *P. tritici-repentis*.

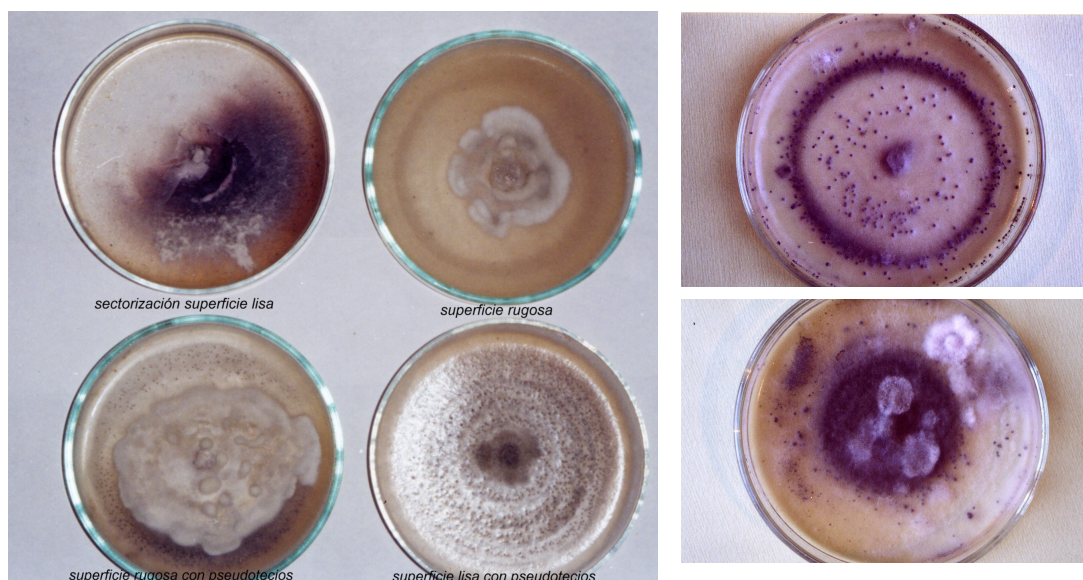
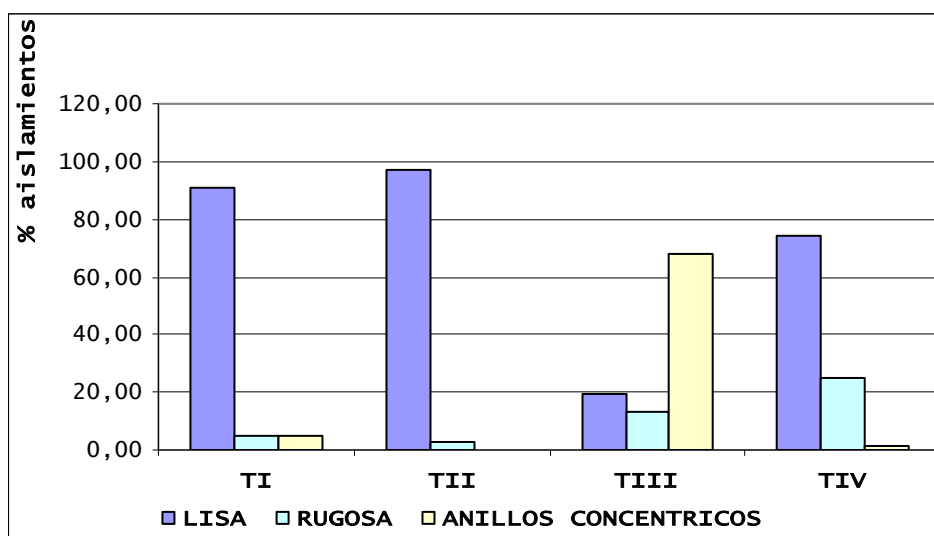


Figura 10. Porcentaje de aislamientos de *P. tritici-repentis* según la superficie de la colonia desarrollada.

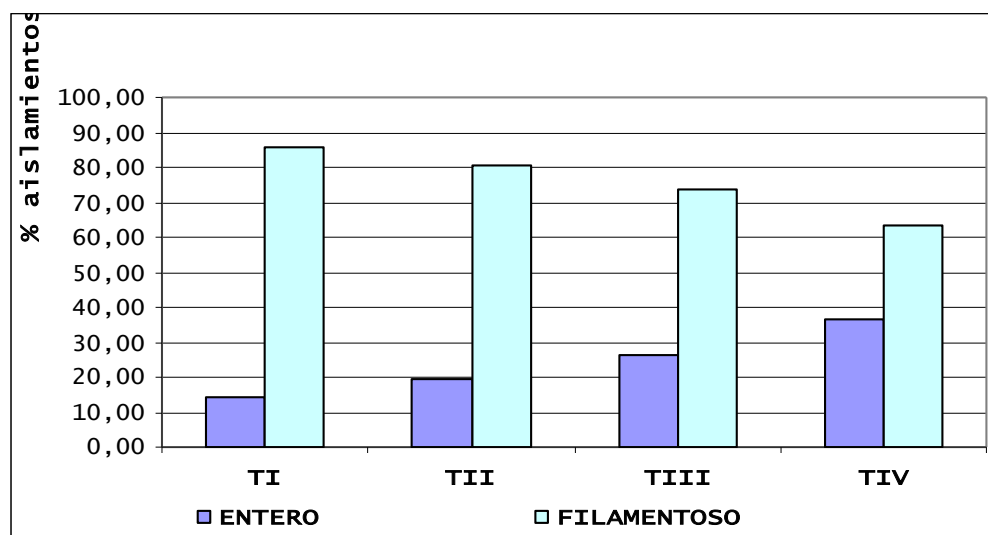


Tratamientos I: APG al 2% con secuencia de 12 hs luz-oscuridad, durante 7 días. II: APG al 2% a oscuridad continua, durante 7 días. III: agar V8, con secuencia de 12 hs luz-oscuridad, durante 7 días. IV: agar V8, a oscuridad continua, durante 7 días.

En cuanto al borde y la forma de las colonias, en ambos casos y para todos los tratamientos (excepto para la forma de la colonia en los tratamientos III y IV), la mayoría fue filamentosa (Figuras 11 y

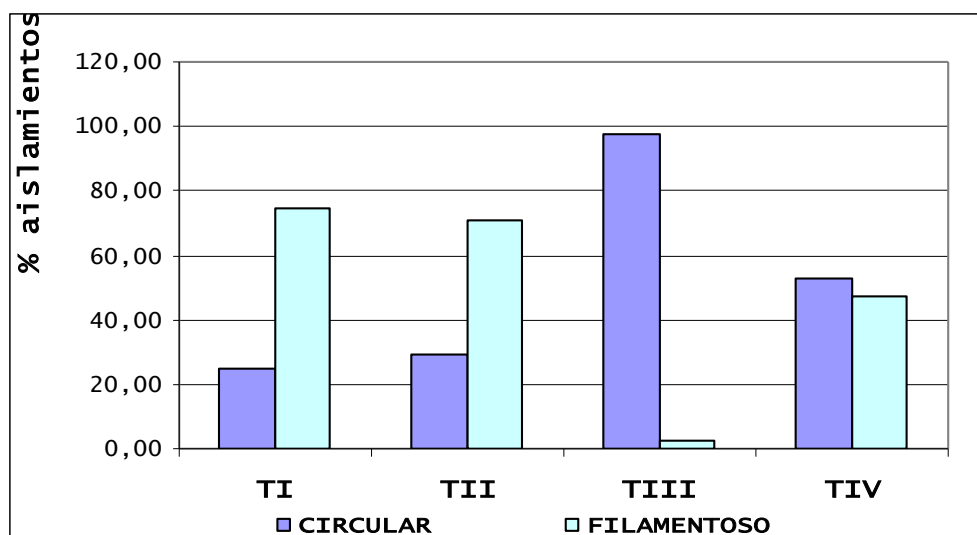
12). En los tratamientos III y IV la forma predominante fue circular pero el borde se mantuvo filamentosos.

Figura 11. Borde de las colonias desarrolladas por los aislamientos de *P. tritici-repentis* expuestos a los cuatro tratamientos.



Tratamientos I: APG al 2% con secuencia de 12 hs luz-oscuridad, durante 7 días. II: APG al 2% a oscuridad continua, durante 7 días. III: agar V8, con secuencia de 12 hs luz-oscuridad, durante 7 días. IV: agar V8, a oscuridad continua, durante 7 días.

Figura 12. Forma de las colonias desarrolladas por los aislamientos de *P. tritici-repentis* expuestos a los cuatro tratamientos.



Tratamientos I: APG al 2% con secuencia de 12 hs luz-oscuridad, durante 7 días. II: APG al 2% a oscuridad continua, durante 7 días. III: agar V8, con secuencia de 12 hs luz-oscuridad, durante 7 días. IV: agar V8, a oscuridad continua, durante 7 días.

Se observó que el desarrollo del micelio aéreo fue en la mayoría de los casos abundante y de aspecto denso, excepto en el tratamiento III donde la mayoría manifestó un desarrollo escaso y aspecto de pelusa, o presencia de “penachos” (Figuras 13 y 14). Esto se relaciona con el hecho de que este tratamiento es el que indujo un mayor número de aislamientos con producción de conidios (149 aislamientos) y por lo tanto el micelio aéreo vegetativo es más escaso.

Figura 13. Diferentes aspectos y grados de desarrollo del micelio aéreo de los aislamientos de *P. tritici-repentis*.

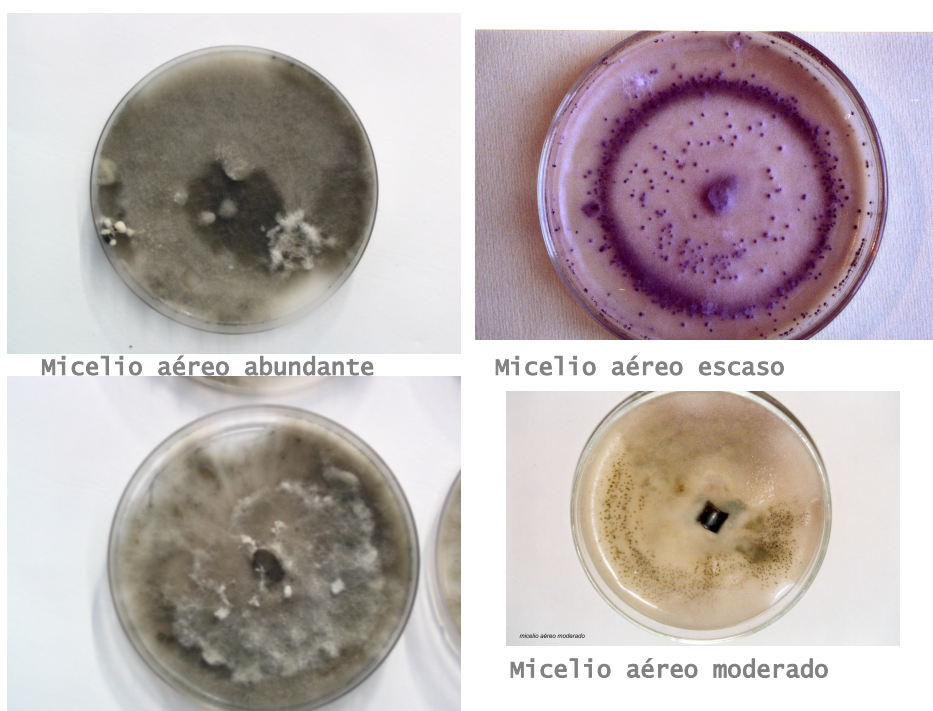
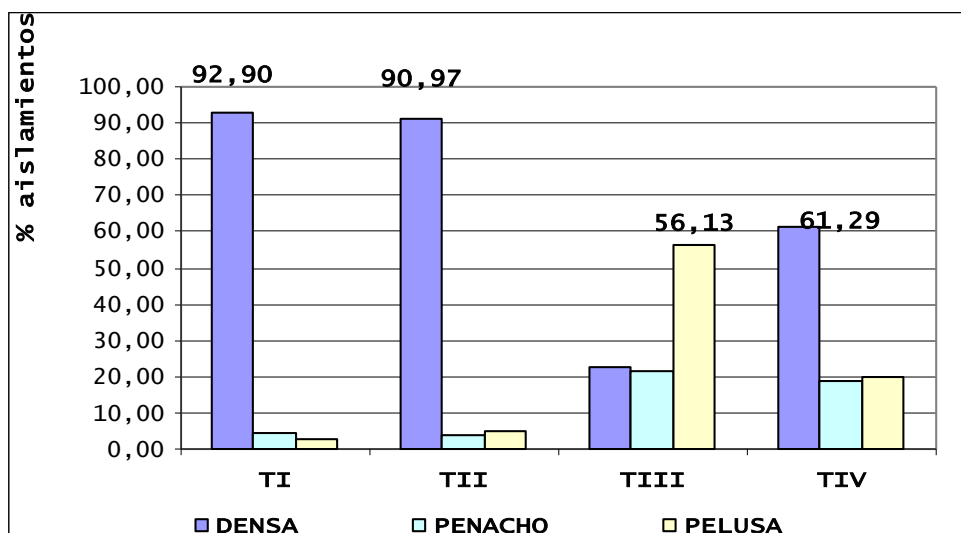
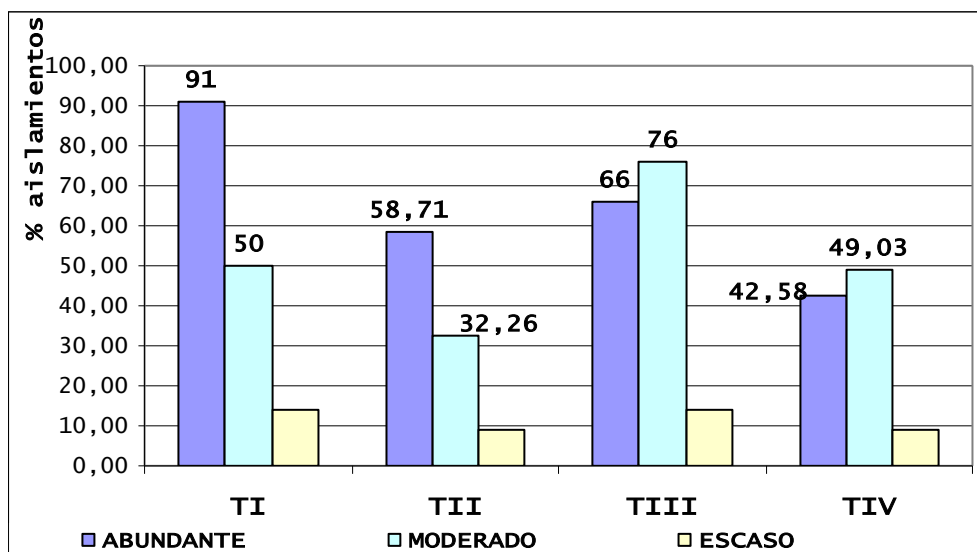


Figura 14. Aspecto y desarrollo del micelio aéreo de las colonias desarrolladas por los aislamientos de *P. tritici-repentis* expuestos a los cuatro tratamientos.

MORFOLOGIA DE LA COLONIA



DESARROLLO MICELIO AEREO



Tratamientos I: APG al 2% con secuencia de 12 hs luz-oscuridad, durante 7 días. II: APG al 2% a oscuridad continua, durante 7 días. III: agar V8, con secuencia de 12 hs luz-oscuridad, durante 7 días. IV: agar V8, a oscuridad continua, durante 7 días.

En los tratamientos I y II los aislamientos no esporularon ni formaron protopseudotecios, a diferencia de los tratamientos III y IV. Igualmente en estos dos tratamientos hubo aislamientos que desarrollaron protopseudotecios (126 aislamientos en el tratamiento

III y 24 aislamientos en el tratamiento IV). En ninguno de los casos los protopseudotecios maduraron.

Sólo en el tratamiento III se midió la longitud de los conidios y el número de septos por conidio para los 126 aislamientos de *P. tritici-repentis* que esporularon. El 53 % de estos aislamientos desarrolló de 4 a 6 septos por conidio y el 47 % de 7-9 septos, ambos valores dentro de los determinados para *D. tritici-repentis*. En cuanto a la longitud de los conidios el 60 % se encuentra entre 150-199 μm , lo que también respeta los valores descriptos para el patógeno (Figura 15).

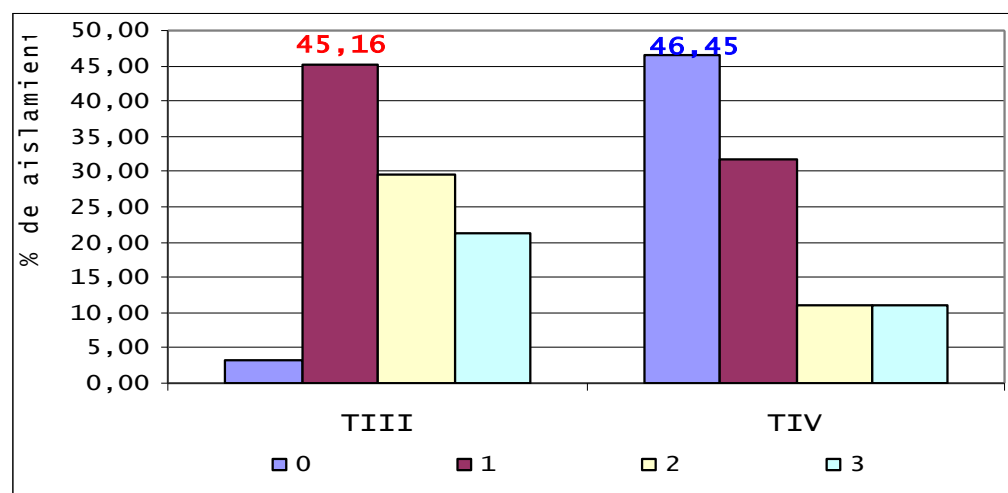
Figura 15. Conidios de *P. tritici-repentis* (10x y 40X)



Los aislamientos se agruparon de acuerdo a la escala diseñada para esporulación. La mayor producción de conidios se observó en el TIII. Sólo 33 de los 155 aislamientos analizados alcanzaron un grado 3 de esporulación según la escala diseñada. En el TIV 17, aislamientos alcanzaron una producción de grado 3 (Figura 16). Se observó que aquellos que produjeron las mayores concentraciones de conidios presentaron el color lavander grey (Rayner, 1970) y un RPC de 0.50-1.50 cm. La gran mayoría de los aislamientos en el TIII presentó esporulación escasa (grado 1). El 46.45% de los aislamientos en el TIV no esporuló, lo que indicaría que un

suplemento de 24 hs de luz no es suficiente para esporular cuando se cultivan a oscuridad continua.

Figura 16. Porcentaje de aislamientos de *P. tritici-repentis* según la escala de producción de conidios de las colonias desarrolladas bajo TIII y TIV.

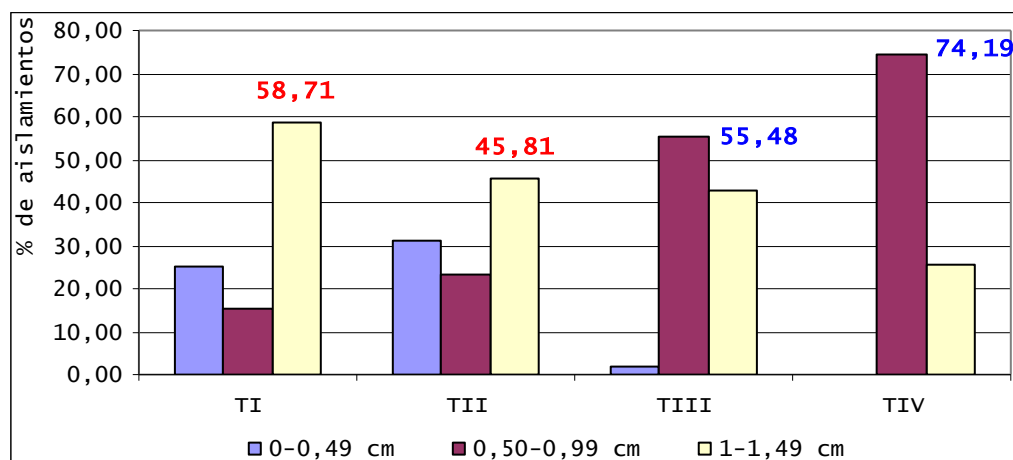


Tratamientos. III: agar V8, con secuencia de 12 hs luz-oscuridad, durante 7 días. IV: agar V8, a oscuridad continua, durante 7 días.

4.2.1. Ritmo promedio de crecimiento

Se observó que en general el RPC fue mayor en APG, donde el 60% y el 46% de los aislamientos expuestos a los tratamientos I y II respectivamente, presentaron un $\text{RPC} \geq 1 \text{ cm/día}$. En el medio V8 el RPC observado en mayor porcentaje fue el intermedio (0.50-0.99cm/día), en el 55% y 74% de los aislamientos expuestos a los tratamientos III y IV respectivamente. Sin embargo, en APG también hay un número elevado de aislamientos que presentan valores bajos (0.10-0.49 cm/día), a diferencia del medio V8 en el cual solo tres aislamientos presentaron esos valores en el tratamiento III (H003, H0111 y FH041) (Figura 17).

Figura 17. Porcentaje de aislamientos de *P. tritici-repentis* según su promedio de crecimiento relativo.



Tratamientos I: APG al 2% con secuencia de 12 hs luz-oscuridad, durante 7 días. II: APG al 2% a oscuridad continua, durante 7 días. III: agar V8, con secuencia de 12 hs luz-oscuridad, durante 7 días. IV: agar V8, a oscuridad continua, durante 7 días.

El análisis de la varianza para el RPC mostró diferencias significativas entre los aislamientos (Tabla 7). En el TI sobresalieron tres aislamientos por su RPC (G0311, G0312 y A0210). Sin embargo las diferencias observadas no son lo suficientemente relevantes. En el TIII y TIV los que más crecieron fueron MJ032 y V0212 y BJ001 respectivamente y no se observaron RPC menores a 0.49 mm. En todos los tratamientos, los que se diferenciaron por un crecimiento menor al resto siempre fueron los aislamientos de la localidad de Los Hornos (H016, H011, H0114 y H001). No hubo asociación entre el RPC y la localidad y/o el cultivar de origen (Anexo. Tabla 8).

Tabla 7. ANOVA del RPC de los aislamientos de *P. tritici-repentis* expuestos a los diferentes tratamientos.

CUADRADO MEDIO					
	GL	TI	TII	TIII	TIV
A	154	0.262413***	0.382678***	0.0514711***	0.04801***
ERROR	155	0.0423339	0.00720581	0.00076129	0.00162903
TOTAL	309				

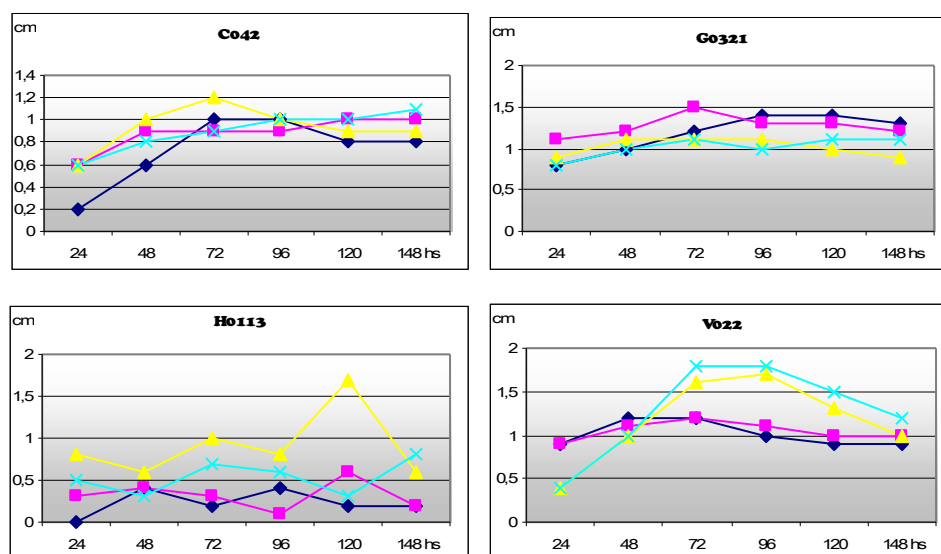
A= Aislamientos

Tratamientos I: APG al 2% con secuencia de 12 hs luz-oscuridad, durante 7 días. II: APG al 2% a oscuridad continua, durante 7 días. III: agar V8, con secuencia de 12 hs luz-oscuridad, durante 7 días. IV: agar V8, a oscuridad continua, durante 7 días.

Con los datos obtenidos a partir del crecimiento de las colonias cada 24 hs se realizaron curvas de crecimiento para cada uno de los aislamientos de *P. tritici-repentis* (Anexo Figura 18). Se establecieron cuatro patrones de crecimiento representados por cuatro aislamientos que mantuvieron esa forma de crecer independientemente del tratamiento al que fueron expuestos.

Patrón I: se observa un aumento hasta las 72-96 hs para luego detenerse o mantenerse constante (C042); Patrón II: se mantiene constante en la totalidad de las 148 hs (G0321); Patrón III: es totalmente irregular (H0113) y Patrón IV: aumenta en las primeras horas y luego continuó creciendo aunque en menor grado (V022) (Figura 19).

Figura 19. Diferentes patrones de crecimiento de los aislamientos C042, G0321, H0113 y V022.



—TI: tratamiento I; —TII: tratamiento II; —TIII: tratamiento III y —TIV: tratamiento IV.

El resto de los aislamientos no mantuvieron un patrón estable a lo largo de los cuatro tratamientos. Esto se ve reflejado en la tabla 9 donde se observan las frecuencias relativas de los aislamientos de acuerdo al patrón de crecimiento desarrollado en cada uno de los tratamientos. Dentro del patrón III, además de H0113 hubo cinco aislamientos más que mantuvieron su patrón independientemente del tratamiento: H016, H0111, H0114, T001 y

G039. En el patrón IV se observaron dos aislamientos más que mantuvieron ese patrón además de V022: V024 y CH005. Los aislamientos TA021, H008, H0011, H0018, CH007, CH008, CH009 y G0323 siempre presentaron el mismo patrón (I, II o III) cuando estuvieron expuestos a los tratamientos II, III y IV y el patrón IV para el TI. Los aislamientos AZ024, O008, V025, G038 siempre mantuvieron un patrón de crecimiento para los tratamientos II, III y IV no así, para el TI.

Tabla 9. Distribución en % de aislamientos que comparten el patrón de crecimiento en los diferentes tratamientos.

	PATRO N I	PATRO N II	PATRO N III	PATRO N IV
TRATAMIENT O I	23	9	25	43
TRATAMIENT O II	19	24	37	20
TRATAMEINT O III	20	29	24	27
TRATAMIENT O IV	21	23	34	22

4.3. Similitud entre los aislamientos de *P. tritici-repentis*.

Para el TIII (CCC= 0,79) se diferenciaron 44 morfotipos con una similitud del 100% (Figura 20). Se tomó arbitrariamente una similitud del 50% y se diferenciaron 8 grupos de acuerdo a este valor. No se observó una asociación por origen geográfico ni por cultivar de origen. Diferentes aislamientos de diferentes orígenes (ya sea cultivar y/o localidad) comparten el mismo grupo. De este modo podemos afirmar que un análisis de agrupamiento a partir de marcadores morfológicos no es suficiente para establecer correlación entre similitud fenotípica y origen geográfico de los aislamientos.

En el grupo 1 se incluyeron 18 aislamientos procedentes de nueve localidades y ocho cultivares. Todos estos aislamientos presentan todos ellos una longitud conidial $\leq 149 \mu\text{m}$, un número de septos de 4-6 septos/conidio y un RPC de 1-1.49 cm. La mayoría de ellos produjo más de 40.000 conidios/ml. El grupo 2 estuvo

conformado por 13 aislamientos que en su totalidad presentaron los mismos estados de los caracteres del grupo 1 menos la producción de conidios (que fue de escasa a moderada). Estos aislamientos provienen de nueve localidades y siete cultivares. El grupo 3 se diferenció por presentar una longitud de los conidios \geq y \leq 149 μ m, un RPC de 0.50-0.99 cm y una producción de conidios alta; estuvo conformado por ocho aislamientos originarios de cuatro localidades y cuatro cultivares. Otro grupo fue el 4, formado por 12 aislamientos procedentes de seis localidades y cinco cultivares. Todos estos aislamientos comparten el número de septos por conidio de 4-6, una producción de conidios moderada y el RPC de 0.50-0.99 cm. Los grupos 5, 6 y 7 fueron los más numerosos. El primero de ellos estuvo conformado por 35 aislamientos provenientes de 12 localidades y siete cultivares. Los 35 aislamientos produjeron conidios de manera escasa (10.000 conidios/ml) y desarrollaron un RPC de 0.50-0.99 cm. Fue el único grupo que en su mayoría desarrolló color Buff. En todos los demás grupos la mayoría de los aislamientos desarrolló color Lavander grey. El grupo 6 se diferenció del 5 porque todos los aislamientos presentaron una longitud conidial \geq 149 μ m, 7-9 septos por conidio y un RPC de 0.50-0.99 cm. Este grupo se formó con 30 aislamientos provenientes de 11 localidades y 11 cultivares. El otro grupo numeroso fue el 7, formado por 29 aislamientos originarios de 13 localidades y 11 cultivares. Se separó del resto porque en el todos los aislamientos a pesar de tener la longitud conidial igual al grupo 6, desarrollaron un RPC de 1-1.49 cm. El grupo 8 estuvo formado por 8 aislamientos provenientes de seis localidades y seis cultivares. Todos sus integrantes compartieron el número de septos por conidios de 7-9 y una longitud \leq 149 μ m. Por último, el grupo 9 estuvo conformado por dos aislamientos uno de ellos proveniente de trigo y el otro de *Festuca* sp, ambos de la localidad de Los Hornos, estos se diferenciairon por presentar un RPC de 0-0.49 cm. En todos

los grupos, excepto en el 8 y 9, se observaron los cuatro tipos de patrones de crecimiento.

Figura 20. Fenograma de aislamientos de *P. tritici-repentis* en base a los caracteres más estables para el TIII.

5. Discusión

Sobre APG al 2% los aislamientos obtenidos desarrollaron en su mayoría un micelio denso, oscuro y filamentoso tanto en el tratamiento sometido a oscuridad continua como en alternancia de 12 horas de luz-oscuridad. En este medio no hubo esporulación, salvo algunas excepciones pero en valores muy bajos respecto a los obtenidos en agar V8. Los conidióforos y los conidios se desarrollaron en ambos tratamientos donde el medio de cultivo fue V8, pero con una abundancia notablemente mayor en el tratamiento con alternancia lumínica. Esto confirma lo observado por otros autores (Ackermann, 1987; Hosford, 1971; Hunger y Brown, 1987). Christensen y Graham (1934) encontraron diferencias en la tasa de crecimiento, forma, color de la colonia y pigmentación del sustrato de 100 aislamientos monospóricos. También observaron diferencias en la longitud de los conidios, no así en el número de pseudoseptos, los que se mantuvieron constantes.

Algunos aislamientos presentaron colores de colonias más rosados o salmón coincide con lo expuesto por Hosford (1971), quien observó que numerosos aislamientos de *Drechslera* sp. producían pigmentos. Hunger y Brown (1987), también observó este fenómeno en aislamientos obtenidos a partir de ascosporas de una misma asca, que desarrollaron colonias blancas, blancas-rojizas y naranjas brillantes, frecuentemente en aquellos aislamientos de bajo crecimiento relativo. También observó que las colonias esporulaban abundantemente en agar-V8. Ackermann (1987), examinó aislamientos de *P.tritici repentis* procedentes de tres grupos de virulencia. Todos presentaron un mismo patrón de crecimiento relativo con cambio del color. Sin embargo, Gilchrist et al. (1984) observaron que en agar V8 la colonia fungosa presenta un aspecto algodonoso y hacia la periferia un desarrollo más bajo que en el centro y rastrero, pero manteniendo una coloración estable.

En cuanto al crecimiento de los aislamientos analizados, si bien se observaron diferencias no se pudo establecer un patrón estable independientemente de las condiciones de cultivo. Los resultados observados coinciden con los de Whemeyer (1954), quien observó diferencias llamativas en el crecimiento relativo de diferentes cepas del patógeno, de acuerdo a las condiciones de cultivo.

La formación de conidios tuvo lugar en aquellas colonias que desarrollaron en el medio agar V8, alcanzando su máximo en exposición a alternancia de luz y oscuridad. Este medio estimuló la formación de protopseudotecios que no maduraron. Esto coincide con lo estudiado por Odvody y Boosalis (1982), quienes colocaron las colonias en agar-V8 durante 8 a 24 horas de luz a una temperatura de 18 a 25 °C obteniendo una producción de 5 a 40 x 10³ conidios. Luz y Hosford (1980), Gilchrist et al (1984) y Elias en (1987), también encontraron que el mejor medio para inducir la esporulación fue el agar V8. En oscuridad, el hongo no produce conidióforos y por lo tanto no habrá conidios. Lo observado en los aislamientos de *P. tritici-repentis* argentinos confirma que la técnica es apropiada para la producción de conidios en altas concentraciones. Sin embargo, es algo engorrosa y trabajosa para desarrollar en laboratorio. Se debería probar con algún método más sencillo si se desea producir incóculo en masa para condiciones de campo (Perelló et al., 2003).

El análisis de similitud para los diferentes tratamientos indica una alta presencia de morfotipos con un 100% de similitud. Se determinó que en todos los casos los grupos diferenciados están formados por aislamientos obtenidos desde diferentes variedades y localidades de recolección. Esto sugiere una alta variabilidad entre los aislamientos en cultivo artificial.

Esta elevada variabilidad se podría atribuir a que durante el período de producción de la fase asexual se observó el fenómeno de anastomosis entre conidios y entre hifas, coincidiendo con lo

observado por Gilchrist et al (1984). La anastomosis está relacionada con la ocurrencia de heterocariosis, fenómeno que afecta la variabilidad de los hongos y además a características como la patogenicidad y la virulencia de aquellos que son fitopatógenos.

Podría inferirse que debido a la gran variabilidad encontrada para estos caracteres, y al observarse que son altamente variables cuando se exponen a diferentes condiciones de cultivo, no deberían tenerse en cuenta como caracteres de valor taxonómico para llevar a cabo una diferenciación de aislamientos en base a ellos. En concordancia con lo ya señalado por otros autores (Burguess, et al., 1995; Teixeira et al., 2004; Urban y Oliveira, 1999), los marcadores morfológicos empleados en esta tesis, tales como pigmentación, textura, forma marginal, velocidad de crecimiento de la colonia, producción de estructuras típicas y presencia o ausencia de zonas concéntricas, a modo general, son altamente inestables y dependientes de la composición del medio utilizado, condiciones de incubación y la propia variación intrínseca del patógeno. Por lo tanto, son subjetivas y poco conclusivas.



CAPITULO II

CARACTERIZACION DE LA VIRULENCIA DE AISLAMIENTOS
ARGENTINOS DE *Pyrenophora tritici-repentis*.

CAPITULO II

CARACTERIZACION DE LA VIRULENCIA DE AISLAMIENTOS ARGENTINOS DE *Pyrenophora tritici-repentis*.**1. INTRODUCCION**

Schöeter (1879) sugirió por primera vez la existencia de especialización fisiológica en los hongos. Según Vanderplank (1978, 1984) la presencia de interacciones significativas entre aislamientos y cultivares es indicativa de diferencias en la especificidad o virulencia de los aislamientos, y por lo tanto de su especialización fisiológica. Así mismo la ausencia de dicha interacción indica que los aislamientos sólo difieren en su agresividad.

La virulencia en la habilidad patogénica de los aislamientos de *P. tritici-repentis* se detectó por primera vez en 1932 (Christensen y Graham, 1932).

La diferencia entre los aislamientos de *P. tritici-repentis* ha sido reportada por Hosford (1971) quien observó que aislamientos del hongo provenientes de trigo causaban enfermedad con variantes en la producción de síntomas. Misra y Singh (1972) también reportaron diferencias en la virulencia de tres aislamientos del hongo frente a 50 cultivares de trigo. Luz da y Hosford (1980) agruparon los aislamientos de *P. tritici-repentis* obtenidos desde diferentes áreas de las Grandes Llanuras de América del Norte, en 12 razas de acuerdo a su comportamiento sobre seis cultivares de trigo. Gilchrist (1992) observaron que los aislamientos provenientes de México variaban en la producción de síntomas (número de lesiones) sobre plántulas y plantas adultas de trigo del cultivar Morocco. Hunger y Brown (1987) por su parte encontraron que nueve aislamientos provenientes de

Oklahoma y Texas presentaron diferencias de virulencia sobre el cultivar de trigo TAM 101.

Krupinsky (1987) reportó diferencias sólo en la agresividad, basándose en la longitud de la lesión y el porcentaje de tejido foliar necrosado, cuando cultivares de trigo fueron inoculados con aislamientos de *P. tritici-repentis* obtenidos desde *Bromus inermis*.

Lamari y Bernier (1989_a) diferenciaron tres patotipos de *P. tritici-repentis* sobre once cultivares y líneas de trigo de acuerdo al tipo de reacción. Ellos observaron que la virulencia en *P. tritici-repentis* estaba asociada con la habilidad de los aislamientos de producir manchas necróticas y cloróticas sobre un determinado grupo de cultivares/líneas diferenciales de trigo.

Schilder y Bergstrom (1990) probaron 70 aislamientos de *P. tritici-repentis* desde Maryland, New York y Ontario (Canadá) sobre 12 cultivares de trigo y reportaron diferencias significativas entre las interacciones aislamiento x cultivar. Sah y Fehrman (1992) inocularon 99 aislamientos provenientes de Brasil, Alemania, India, Nepal y Estados Unidos sobre ocho cultivares de trigo y observaron diferencias significativas para la interacción aislamiento x cultivar. Sin embargo, Krupinsky (1992_{a,b}) detectó diferentes niveles de agresividad de 84 aislamientos provenientes de Montana, Dakota del Norte y del Sur (Estados Unidos) pero no en virulencia. Ali y Buchneau (1992) probaron 59 aislamientos provenientes de Dakota del Sur (Estados Unidos) y observaron especialización fisiológica de acuerdo al tipo de reacción obtenido. Mehta et al., (2004) inocularon 40 aislamientos colectados desde Paraná (Brasil) sobre seis cultivares de trigo y observaron una baja interacción aislamiento por cultivar.

Se conocen en el mundo unas 10 razas de *P. tritici-repentis* se caracteriza en 10 razas determinadas sobre un grupo de diferenciales de comportamiento (Ali y Francis, 2001_{a,b}, 2002_b; Lamari y Bernier, 1989_{a,b}; Lamari y Gilbert 1998; Lamari et al., 1995, 1998, 2003,

2005). Las razas 1, 2, 3 y 4 se corresponden con las originalmente determinadas por Lamari et al., (1995) desde aislamientos obtenidos en América del Norte, donde las razas 1 y 2 son predominantes (Ali y Franc1, 2003). La mayoría de los aislamientos identificados como raza 5 proceden del Norte de Africa, Norte América y Azerbaïdjan (Ali et al., 1990; Ali y Franc1, 2003; Lamari et al., 1995, 1998; Strelkov et al., 2002). Las denominadas razas 6, 7 y 8 han sido identificadas desde colecciones provenientes de Algeria, el Caucaso y América del Sur (Ali y Franc1, 2002_a; Lamari et al., 2003; Strelkov et al., 2002). Recientemente se han identificado las razas 9 y 10 provenientes de América del Sur, que poseen un patrón de virulencia diferente al de América del Norte, lo que indicaría que la población de *P. tritici-repentis* es diversa en esta región (Ali y Franc1, 2002_b).

2. OBJETIVOS

- Analizar la variabilidad patogénica un amplio espectro de aislamientos de *P. tritici-repentis*, obtenidos desde diferentes cultivares y localidades de las zonas trigueras de Argentina.
- Analizar la respuesta de un grupo de cultivares de trigo nacionales y extranjeros como diferenciales de comportamiento.

3. METODOLOGIA

3.1. Pruebas de patogenicidad bajo invernáculo

Para la caracterización de la virulencia de los aislamientos de *P. tritici-repentis*, se realizaron dos pruebas de patogenicidad, conducidas durante los años 2003 (PI) y 2004 (PII). Ambos ensayos se realizaron en el invernáculo del CIDEFI, Facultad de Cs. Agrarias y

Forestales de la UNLP, con la misma metodología. Sólo variaron en el número de los aislamientos y los cultivares utilizados.

En ambos casos el diseño experimental fue en parcelas divididas en tres bloques en el tiempo distribuidas al azar, siendo la parcela mayor los aislamientos y la subparcela los cultivares de trigo.

Para la producción de inóculo se siguió la técnica desarrollada por Raymond y Bockus (1982) ya expuesta en el capítulo I. En PI se probaron 51 aislamientos de *P. tritici-repentis* (Tabla 10) y en PII el total de los aislamientos obtenidos (Tabla 5 Cap.I).

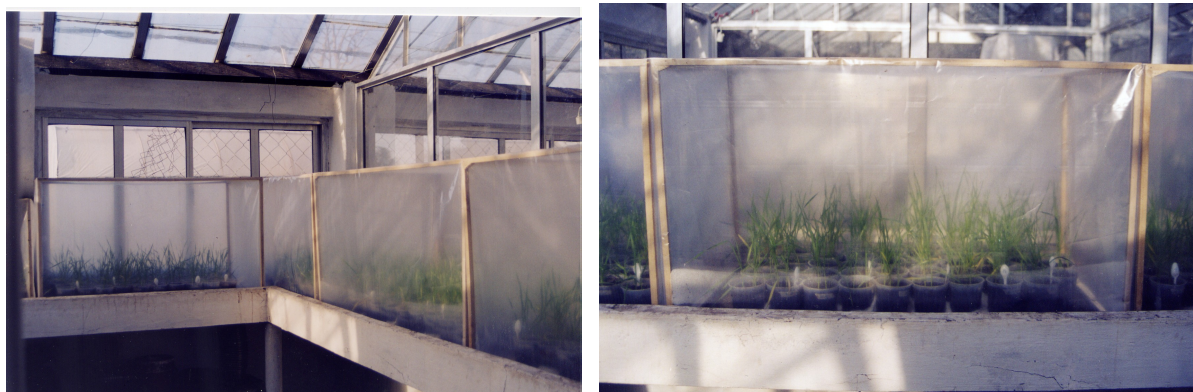
Tabla 10. Aislamientos de *P. tritici-repentis* utilizados en la Prueba de patogenicidad del año 2003.

Aislamiento	Localidad	Año	Región Triguera
A021	Alberti	2002	IISUR
A029	Alberti	2002	IISUR
A0210	Alberti	2002	IISUR
ARR031	Arrecifes	2003	II NORTE
ARR035	Arrecifes	2003	II NORTE
AZ021	Azul	2002	IV
AZ023	Azul	2002	IV
AZ024	Azul	2002	IV
BJ00	Benito Juárez	2000	IV
BJ0011	Benito Juárez	2000	IV
B021	Bragado	2002	IISUR
B024	Bragado	2002	IISUR
B028	Bragado	2002	IISUR
CH002	Chillar	2000	IV
CH007	Chillar	2000	IV
CH0010	Chillar	2000	IV
CP021	Comodoro Py	2002	II NORTE
CS001	Coronel Suárez	2000	V SUR
CS003	Coronel Suárez	2000	V SUR
G037	Gualeduaychú	2003	III
G0310	Gualeduaychú	2003	III
H003	Los Hornos	2000	IISUR
H0011	Los Hornos	2000	IISUR
H0014	Los Hornos	2000	IISUR
H021	Los Hornos	2002	IISUR
9J031	9 de Julio	2003	II SUR
9J032	9 de Julio	2003	II SUR
MJ032	Marcos Juárez	2003	V NORTE
25M032	25 de Mayo	2003	II SUR
25M036	25 de mayo	2003	II SUR
OL022	Olavarría	2002	IV
O001	Orense	2000	IV
O008	Orense	2000	IV
O0018	Orense	2000	IV
P021	Pergamino	2002	II NORTE
P027	Pergamino	2002	II NORTE
P022	Pergamino	2002	II NORTE
P023	Pergamino	2002	II NORTE
N021	Rincón Nogoyá	2002	III
N022	Rincón Nogoyá	2002	III
SALTO1	Salto	2003	II NORTE
SALTO2	Salto	2003	II NORTE
TA021	Tandil	2002	IV
TA022	Tandil	2002	IV

TA024	Tandil	2002	IV
T003	Tapalqué	2000	IV
T009	Tapalqué	2000	IV
T0017	Tapalqué	2000	IV
V024	Victoria	2002	III
V025	Victoria	2002	III
V0213	Victoria	2002	III

Los ensayos se realizaron durante los meses de mayo, junio, julio y agosto de 2003 y 2004. Para cada tratamiento se utilizaron macetas de 500 g en las que se sembraron 3 semillas por cada cultivar. Las plántulas se inocularon en el estadio de tercer hoja expandida con una concentración de 3000 conidios/ml concentración promedio calculada entre las utilizadas previamente según referencias bibliográficas (Ali et al., 1990; Ali y Francí 2001_a, 2003; Gamba y Lamari, 1998; Gamba et al., 1998; Krupinsky, 1987, 1992_a; Lamari et al., 1995, 1998; Lamari y Bernier, 1989_{a,b}; Luz y Hosford, 1980; Perelló et al., 2003; Sah et al., 1992; Schilder y Bergstrom, 1990). La aplicación del inóculo se realizó con un aspersor manual de 100 ml, hasta chorreo. Durante las primeras 48 hs las plántulas se mantuvieron bajo cámara húmeda (armazones de 0.70 cm x 0.70 cm x 0.60cm, cubiertos de polietileno) (Figura 21). Luego se mantuvieron en el invernáculo hasta el momento de la evaluación. La temperatura media del invernáculo varió entre 14°C y 22°C y la humedad entre el 50 % y el 85%.

Figura 21. Pruebas de patogenicidad en invernáculo, cámara húmeda.



Para PI se seleccionaron 10 cultivares diferenciales de comportamiento: BUCK HALCÓN, CHRIS (C13751), GABO (CW10004), GLENLEA (BW 4806), KLEIN DRAGÓN, KLEIN SENDERO (AUS 21887), MAX, ND 495 (AUS 2068), PROINTA GUAZÚ Y PROINTA IMPERIAL, considerando los utilizados por otros autores (Ali et al., 1990; Lamari et al., 1998; Luz y Hosford, 1980; Schilder y Bergstrom, 1990).

En PII se probaron 8 cultivares de trigo que son utilizados comúnmente en la zona triguera de la Argentina: ACA 303, ACA 801, BAGUETTE 10, BUCK PREMIUN 13, KLEIN CHAJA, KLEIN ESCORPION, KLEIN FLECHA y KLEIN JABALI.

3.2. Análisis de los datos

Los parámetros evaluados fueron:

Período de incubación: número de días hasta que el 50 % de las plantas presentaron los primeros síntomas.

Tipo de reacción: se definieron tres tipos de reacción: clorosis (Cl), necrosis (Nec) y necrosis con clorosis (NecCl).

Severidad de la enfermedad: se calculó a los nueve días de la inoculación en base al porcentaje de área foliar lesionada de cada una de las hojas de la planta inoculada.

En PI se evaluaron las tres hojas de cada plántula, mientras que en PII la basal y la inmediata superior, obteniendo un total de 10800 y 22320 datos, respectivamente.

Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) para parcelas divididas al $\alpha = 0.05$, para cada una de las pruebas de patogenicidad. Se realizó la prueba de Tukey al $p = 0.05$ para la comparación de las medias. Los análisis se realizaron con el programa MSTAT-c (Russell). El modelo del ANOVA consistió en:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + \delta_{ij} + \gamma_k + (\tau\gamma)_{ik} + \epsilon_{ijk}$$

i = Bloques (1-3); j = aislamientos (51); k = cultivares (1-10)

μ = media total

τ_i = efecto parcela mayor

β_j = efecto bloque

δ_{ij} = error (A)

γ_k = efecto subparcela

$(\tau\gamma)_{ik}$ = efecto interacción

ϵ_{ijk} = error (B)

Fuente de Variación	Calculo de los Grados de libertad
Bloques (r)	$r-1$
Aislamientos (a)	$a-1$
Error (A)	$(a-1)(r-1)$
Cultivares (b)	$b-1$
Aislamiento x cultivar (axb)	$(a-1)(b-1)$
Error (B)	$a(b-1)(r-1)$
Total	$abr-1$

4. RESULTADOS

4.1. Prueba de patogenicidad 2003.

Los primeros síntomas comenzaron a visualizarse a las 72 hs de realizada la inoculación. Los cultivares que mostraron síntomas más tempranamente fueron ND495 y MAX, ambos en interacción con los aislamientos CS001, AZ024, CP021, OL022, N021, H0014, A0210, P022, AZ021, T009, N022, P027, y CS001, AZ024, OL022, H0014, A0210, BJ0011, O0018, B021, T003, A029, N021, respectivamente. Los otros cultivares que presentaron síntomas tempranamente pero en menor número de interacción con los aislamientos fueron GLENLEA con CS001, CP021, A0210; KLEIN DRAGÓN con AZ024 y A0210; PROINTA IMPERIAL con A0210; GABO con N022 y BUCK HALCÓN con el aislamiento N021.

Se observaron los tres tipos de reacción:

a) clorosis: caracterizada por un progresivo amarillamiento de la hoja, seguida por desintegración del tejido (C1)

b) necrosis: desarrollada a modo de “ojo” alrededor de una pequeña mancha más oscura (Nec)

c) necrosis con halo clorótico expandido (NecCl) (Figura 22).

Figura 22. Tipos de reacción observados en los cultivares inoculados con los aislamientos de *P. tritici-repentis*.



a) clorosis (Cl)

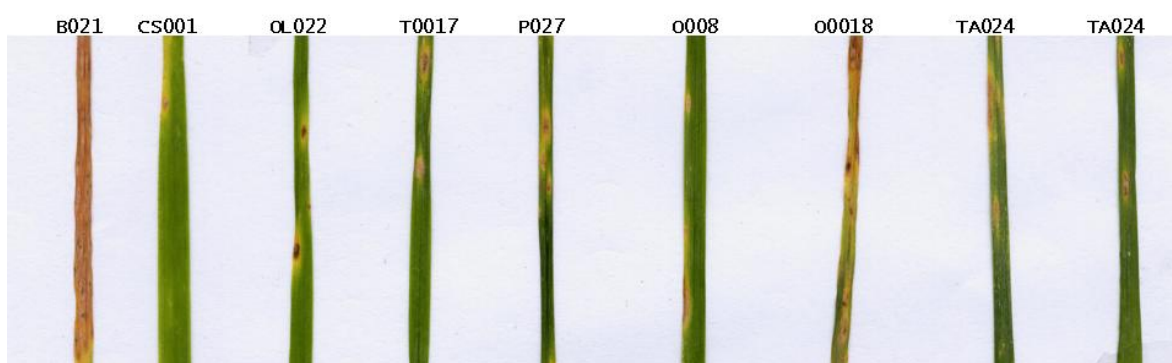


b) Necrosis (Nec)

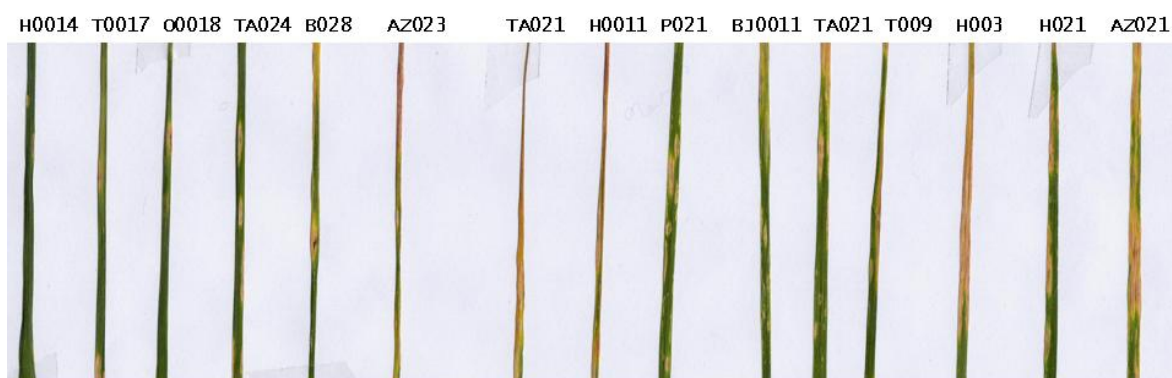


c) Necrosis con halo clorótico (NecCl)

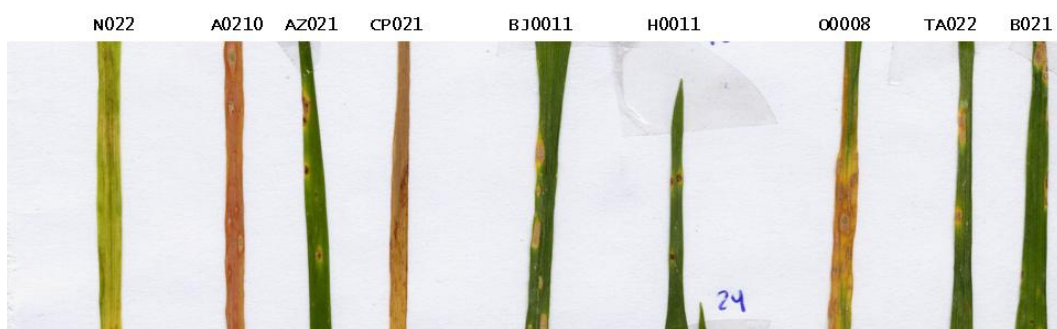
CHRIS



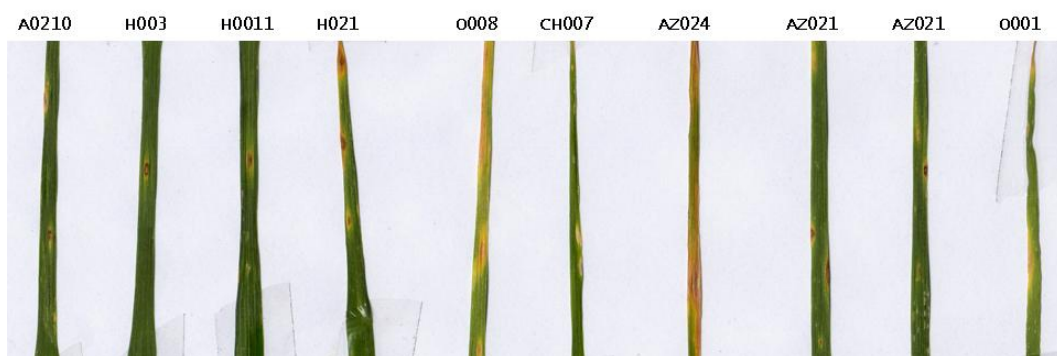
MAX



GLENLEA



ND495



Del total de las interacciones aislamiento x cultivar analizadas (510 combinaciones), el tipo de reacción más frecuentemente observado fue NecCl (34%) representada en 175 combinaciones; el tipo Cl tuvo una frecuencia de aparición del 19% (97 combinaciones). Ambos tipos de reacción se manifestaron sobre los 10 cultivares analizados. El tipo de reacción Nec se registró en muy baja frecuencia (2%) y solo en cinco del total de los cultivares evaluados (Chris, Max, Glenlea, Gabo, B. Halcón y K. Dragón) (Tabla 11).

Analizando el comportamiento de cada aislamiento en particular, A0210, Bj00, H021 y 9J031 fueron los únicos que produjeron los tres tipos de síntomas independientemente del cultivar con el que interactuó. Se destaca un grupo conformado por A021, ARR031, ARR035, B028, CH002, 9J032, 25M032, 25M036, O008, P022, S031, S032, TA022 y V0213 por producir sólo el tipo NecCl. Sólo el aislamiento A0210 provocó reacción, en todos los cultivares. A su vez, el aislamiento P021 se distinguió porque no indujo ningún tipo de reacción sobre el grupo de cultivares inoculados. Los aislamientos H003 y T0017 indujeron la manifestación de Cl en la mayoría de sus interacciones (Tabla 11).

Tabla 11. Tipos de reacción provocados por *P. tritici-repentis* en la prueba de patogenicidad del año 2003.

A	Chris	ProInta Imperial	Max	Glenle a	ProInta Guazú	Gabo	B. Halcón	K. Sendero	ND 495	K. Dragón
A021	-	-	NecC1	-	-	-	-	NecC1	NecC1	-
A029	C1	C1	NecC1	C1	NecC1	NecC1	C1	C1	C1	-
A0210	Nec	NecC1	NecC1	NecC1	C1	C1	NecC1	NecC1	NecC1	NecC1
ARR031	-	-	-	Nec	-	-	-	NecC1	NecC1	-
ARR035	-	-	-	-	-	NecC1	NecC1	NecC1	NecC1	-
AZ021	Nec	-	NecC1	NecC1	-	C1	C1	NecC1	NecC1	-
AZ023	NecC1	-	NecC1	C1	C1	-	-	NecC1	NecC1	-
AZ024	C1	-	NecC1	-	-	-	-	NecC1	C1	-
BJ00	NecC1	NecC1	Nec	C1	NecC1	-	-	NecC1	C1	-
BJ0011	C1	-	NecC1	-	-	-	-	-	NecC1	-
B021	C1	-	NecC1	NecC1	NecC1	NecC1	NecC1	C1	C1	-
B024	Nec	NecC1	-	NecC1	C1	NecC1	-	NecC1	NecC1	-
B028	-	-	NecC1	-	-	-	-	-	NecC1	-
CH002	-	-	NecC1	NecC1	NecC1	-	-	-	NecC1	NecC1
CH007	-	-	C1	C1	-	-	-	C1	NecC1	-
CH0010	-	-	NecC1	-	C1	C1	-	-	NecC1	-
CP021	-	-	C1	C1	-	-	-	C1	C1	NecC1
CS001	C1	-	NecC1	C1	C1	C1	-	NecC1	NecC1	-
CS003	NecC1	-	NecC1	NecC1	C1	C1	-	NecC1	NecC1	NecC1
G037	-	-	Nec	-	-	-	-	NecC1	NecC1	-
G0310	-	-	-	-	-	-	Nec	NecC1	-	-
H003	Nec	-	C1	C1	C1	C1	C1	C1	NecC1	NecC1
H0011	C1	-	NecC1	NecC1	NecC1	NecC1	NecC1	NecC1	NecC1	NecC1
H0014	NecC1	-	NecC1	C1	-	NecC1	-	C1	C1	-
H021	Nec	-	NecC1	-	C1	NecC1	C1	NecC1	NecC1	NecC1
9J031	-	C1	NecC1	-	-	NecC1	C1	NecC1	NecC1	Nec
9J032	-	-	NecC1	NecC1	-	NecC1	-	NecC1	-	-
MJ032	-	C1	-	-	-	-	NecC1	NecC1	NecC1	-
25M032	-	NecC1	NecC1	-	-	-	NecC1	NecC1	NecC1	NecC1
25M036	-	-	NecC1	-	-	-	-	NecC1	NecC1	-
OL022	NecC1	-	NecC1	C1	C1	C1	-	C1	NecC1	C1
O001	Nec	-	NecC1	NecC1	-	-	-	NecC1	NecC1	-
O008	NecC1	-	NecC1	NecC1	-	-	-	-	NecC1	-
O0018	NecC1	-	NecC1	-	-	-	-	-	C1	NecC1
P021	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P027	NecC1	-	NecC1	C1	-	C1	C1	NecC1	NecC1	C1
P022	-	NecC1	NecC1	-	-	-	-	NecC1	NecC1	-
P023	C1	-	NecC1	C1	NecC1	NecC1	C1	C1	C1	-
N021	NecC1	C1	NecC1	C1	NecC1	C1	C1	-	C1	NecC1
N022	NecC1	C1	NecC1	C1	NecC1	C1	C1	-	C1	NecC1
S031	-	-	NecC1	-	-	-	-	NecC1	NecC1	-
S032	-	-	NecC1	-	-	NecC1	NecC1	NecC1	NecC1	NecC1
TA021	-	-	NecC1	-	C1	-	NecC1	-	NecC1	-
TA022	-	-	-	NecC1	-	-	NecC1	NecC1	NecC1	-
TA024	C1	-	NecC1	NecC1	NecC1	NecC1	NecC1	C1	C1	-
T003	-	-	NecC1	-	NecC1	NecC1	NecC1	C1	C1	-
T009	C1	-	NecC1	C1	C1	NecC1	-	NecC1	NecC1	C1
T0017	NecC1	C1	C1	C1	-	C1	-	C1	-	C1
V024	-	-	NecC1	-	C1	C1	-	-	C1	-
V025	NecC1	-	NecC1	C1	-	C1	NecC1	-	C1	-
V0213	NecC1	-	NecC1	-	-	-	-	-	NecC1	-

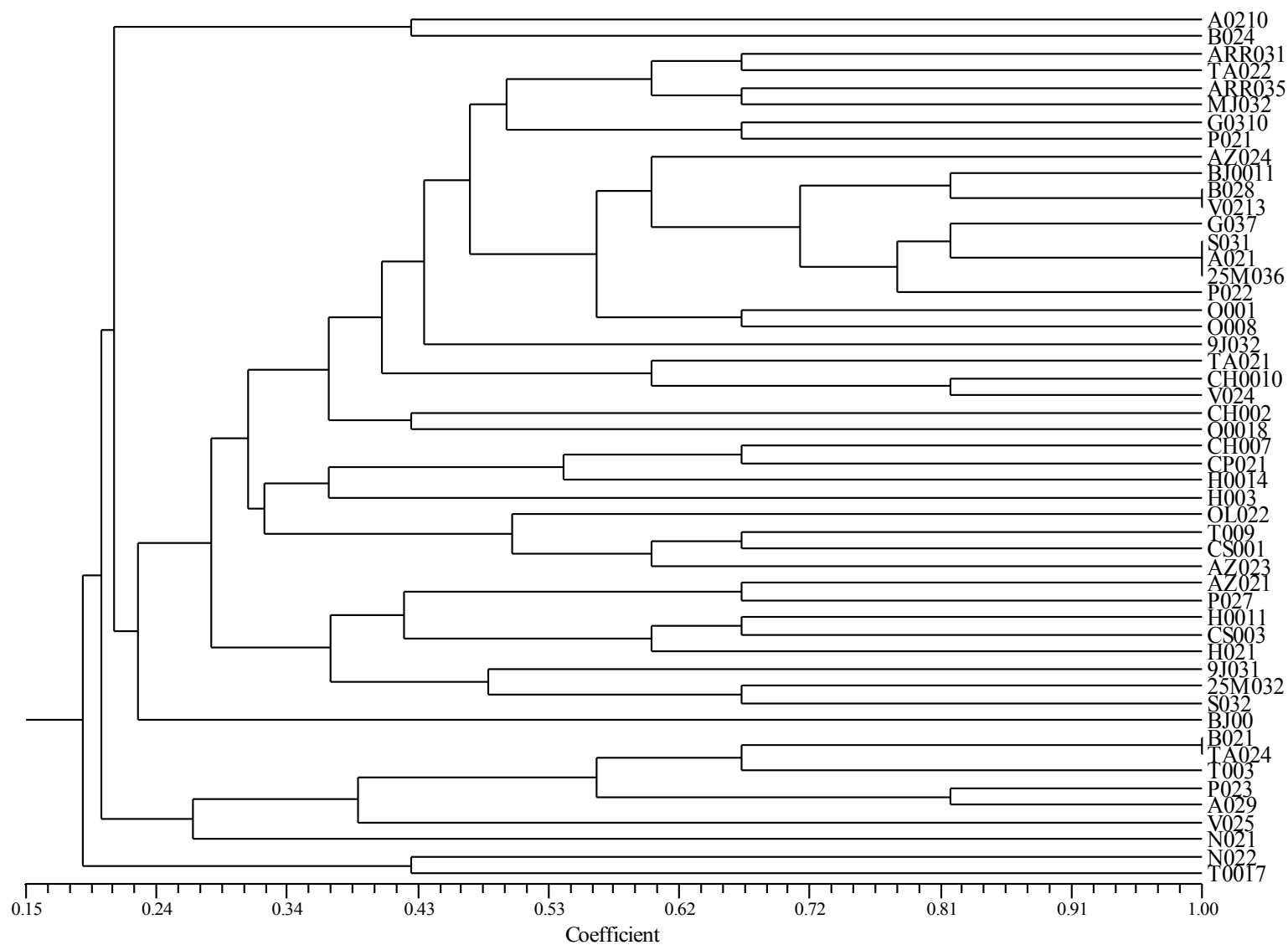
A: aislamientos; C1 = clorosis; Nec = Necrosis; NecC1 = Necrosis con halo clorótico

A partir de estos resultados se construyó una matriz de similitud utilizando el coeficiente asimétrico de Jaccard (J) (Sneath y Socal, 1973). A partir, de esta se construyó un dendrograma mediante el método de UPGMA (CCC= 0.77) que permitió agrupar a los aislamientos en 47 “patotipos” según el tipo de reacción inducida (Figura 23). Los aislamientos con un 100% de similitud fueron B028 y V0213, que provocaron Nec sobre los

cultivares MAX y ND495; S031, A021 y 25M036 que además de haber producido Nec sobre Max y ND495, también lo hicieron sobre K. Sendero, y B021 y TA024 que provocaron Cl sobre los cultivares Chris, K. Sendero y ND495, y NecCl sobre B. Halcón, Gabo, Glenlea, Max y P. Guazú (Tabla 11).

No pudo establecerse ningún agrupamiento entre los tipos de reacción y la zona geográfica de procedencia o cultivar de origen.

Figura 23. Dendrograma basado en el tipo de reacción generada por los aislamientos de *P. tritici-repentis* en los diferentes cultivares de trigo.



El análisis de la varianza para el porcentaje del área foliar lesionada indicó que existen diferencias significativas entre los aislamientos, los cultivares y la interacción aislamiento x cultivar (Tabla 12).

Tabla 12. Análisis de la varianza (ANOVA) para la severidad provocada por los aislamientos de *P. tritici-repentis* en PI 2003.

Fuente de variación	Grados de libertad	de suma de cuadrados	Cuadrados medios
Bloques	2	153.993	76.996 ns
Aislamientos	50	11174.153	223.483 ***
Error	100	6272.657	62.727
Cultivares	9	5385.573	598.397 ***
Aislamiento x cultivar	450	7851.690	17.448 ***
Error	918	12392.203	13.499
Total	1529	43230.269	

CV= 45.25%. ns: no significativo; ***: significativo al $p=0.05$

Del total de los aislamientos inoculados se observó especialización fisiológica (interacción significativa aislamiento x cultivar) para 19 de ellos. Estos provocaron diferente grado de severidad en los cultivares inoculados (Tabla 13) Anexo Figura 23.

Tabla 13. Interacciones aislamiento x cultivar estadísticamente significativas para la prueba de patogenicidad del año 2003.

Cultivar	T009	A0210	V025	0017	H0011	AZ023	B024	BJ0011	N021	AZ024
CHRIS	1.36 bc	3.48 abc	5.88 bc	2.81 ab	3.96 cd	2.33 b	0.40 b	0.62 b	2.40 abc	1.33 ab
PROINTA IMPERIAL	2.05 abc	0.84 c	3.78 bc	0 b	1.78 d	0.33 b	0.33 b	0.40 b	0 c	0.83 ab
MAX	11.85 a	11.81 a	7.81 ab	6.67 a	11.44 abc	12.85 a	1.66 ab	7.26 a	3.81 abc	6.63 a
GLENLEA	8.59 ab	6.11 abc	7.55 abc	1.26 ab	18.85 a	6.77 ab	3 ab	1.66 ab	10.03 ab	5.33 ab
PROINTA GUAZU	1.83 abc	2.07 bc	1.74 bc	0.59 b	1.03 d	1.36 b	1.11 ab	0 b	2.33 abc	0.07 b
GABO	2.92 abc	4.07 abc	4.48 bc	1.70 ab	3.59 cd	1.96 b	7.03 ab	2.22 ab	2.44 abc	2.66 ab
BUCK HALCON	0.36 c	1.72 bc	0.66 c	0.74 ab	1.48 d	1.51 b	0.22 b	0.74 b	5.40 abc	0.07 b
KLEIN SENDERO	1.96 abc	2.96 abc	2.52 bc	1.51 ab	6.03 bcd	1.99 b	2.26 ab	0 b	0.77 bc	1.55 ab
ND495	7.92 abc	8.22 ab	16.11 a	8.22 ab	15.07 ab	4.22 ab	7.96 a	0.88 ab	14.07 a	6.55 a
KLEIN DRAGON	2.14 abc	3.77 abc	1.10 bc	1.29 ab	3.40 d	1.00 b	2.96 ab	0 b	2.70 abc	2.03 ab

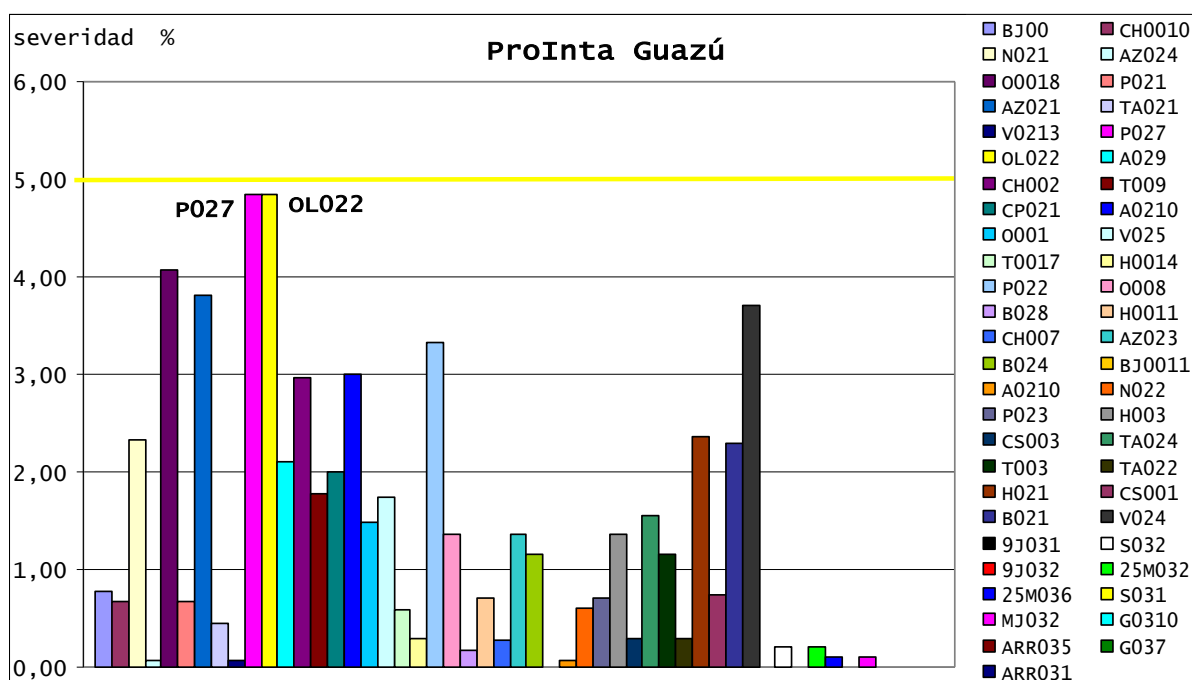
Las medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias significativas.

Cultivar	A029	CH002	H021	CS001	B021	V024	H003	O0018	AZ021
CHRIS	2.92 b	2.62 ab	9.15 abc	2.07 ab	4.14 abc	5.96 ab	3.44 ab	0 b	3.40 abc
PROINTA IMPERIAL	0.22 b	0.59 b	5.29 bcd	1.18 b	0.21 c	8.78 a	0.72 b	0 b	0.33 c
MAX	4.96 ab	8.44 a	6 abcd	7.59 ab	3.59 abc	8.11 ab	3.85 ab	13.70 a	8.29 ab
GLENLEA	1.33 b	2.40 ab	0.77 d	2.14 ab	11.29 a	7.77 ab	12.25 a	4.04 ab	10.22 a
PROINTA GUAZU	2.11 b	2.96 ab	2.36 bcd	0.74 b	1.92 abc	3.61 ab	1.37 b	3.89 b	3.40 abc
GABO	4.37 ab	3.11 ab	15.96 a	1.66 ab	1.89 abc	3.74 ab	6.18 ab	3.70 b	6.88 abc
BUCK HALCON	0.07 b	2.48 ab	1.15 cd	0.11 b	1.18 bc	1.50 b	1.14 b	1.03 b	4.55 abc
KLEIN SENDERO	4.39 ab	1.78 ab	10.29 ab	2.36 ab	0.55 c	8.33 ab	6.59 ab	2.89 b	4.99 abc
ND495	12.57 a	3.22 ab	7.88 abc	8.63 a	7.15 ab	8.85 ab	6.22 ab	2.14 b	9.59 ab
KLEIN DRAGON	0.96 b	0.62 b	3.59 bcd	1.03 b	2.48 abc	1.48 b	1.92 b	1.14 b	2.18 bc

Las medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias significativas.

El análisis de la severidad de la enfermedad provocada por los diferentes aislamientos sobre cada uno de los cultivares probados indicó que sobre el cultivar PROINTA GUAZÚ ningún aislamiento produjo una severidad mayor al 5% (Figura 24).

Figura 24. Medias de severidad para el cultivar ProInta Guazú.



En el cultivar CHRIS los aislamientos H021, V024 y V025 produjeron valores superiores al 5% (Figura 25); en el cultivar PROINTA IMPERIAL los aislamientos que produjeron severidad mayor al 5% fueron H021, V024, OL022 y P027 (Figura 26).

Figura 25. Medias de severidad para el cultivar Chris

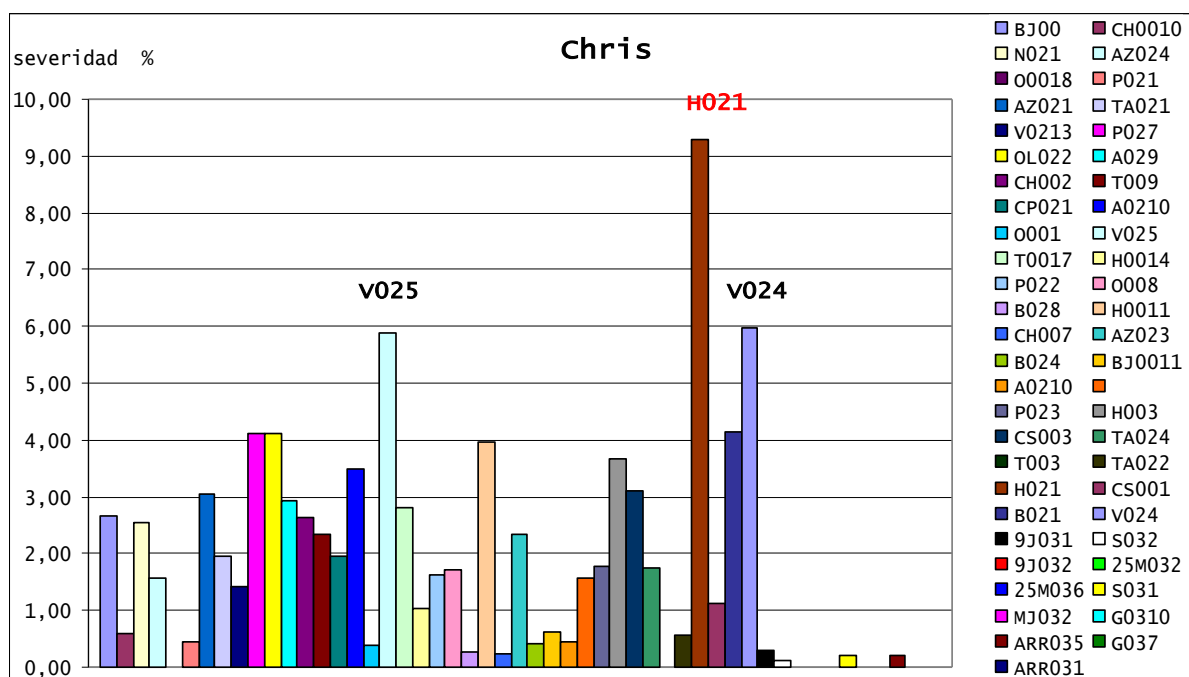
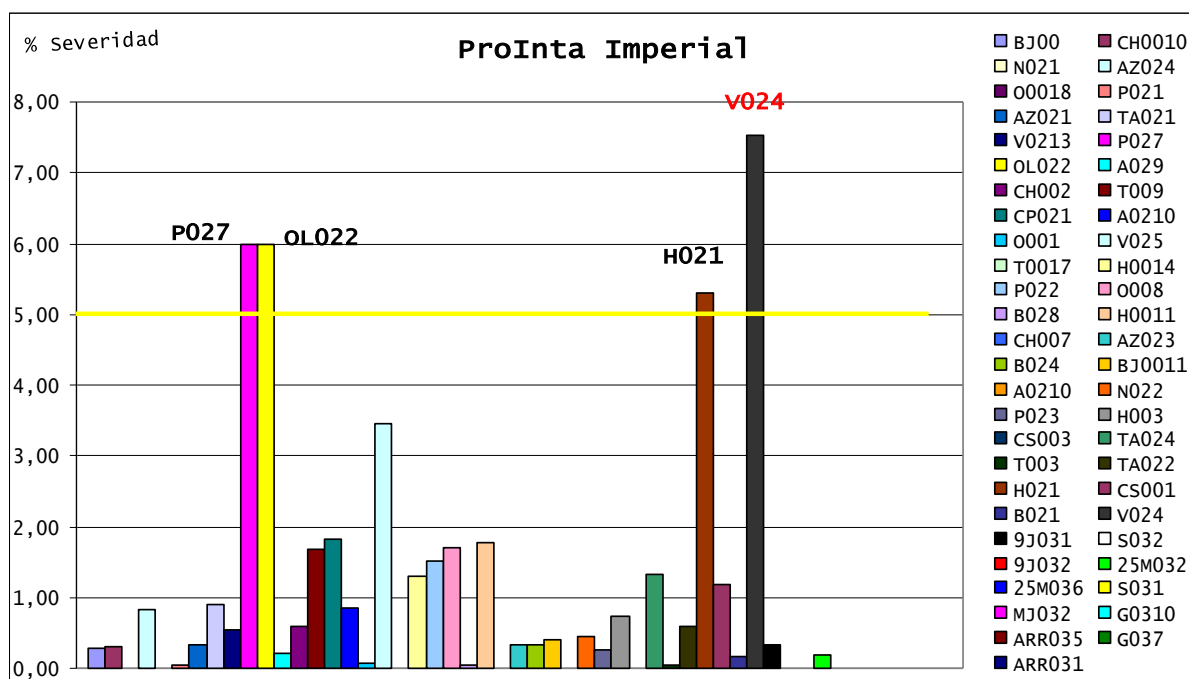
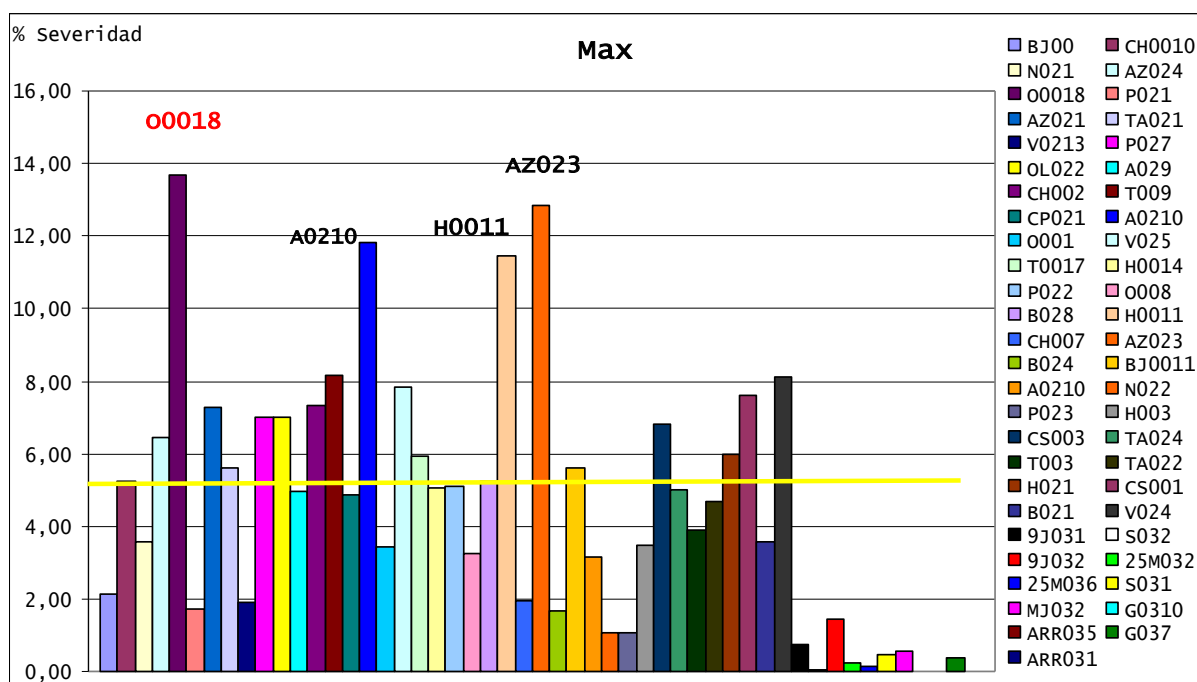


Figura 26. Medias de severidad para el cultivar ProInta Imperial.



El cultivar más afectado fue MAX donde los aislamientos P027, OL022, AZ024, AZ021, AZ023, O0018, H0011, H021, T009, V024, V025, CS001 y CH002 produjeron valores de severidad mayores al 5% (Figura 27).

Figura 27. Medias de severidad para el cultivar Max.



En GLENLEA los aislamientos que produjeron este grado de severidad fueron H0011, H003, Az021, AZ024, TA021, T009, B021, N021, CP021, A0210, P022 y V025 (Figura 28). Otro cultivar en el que 16 aislamientos (T0017, H0011, B024, H003, H021, CS001, V024, B021, BJ00, N021, AZ024, TA021, A029, CP022, A0210 y V025) produjeron valores mayores al 5% de severidad fue ND495 (Figura 29).

Figura 28. Medias de severidad para el cultivar Glenlea.

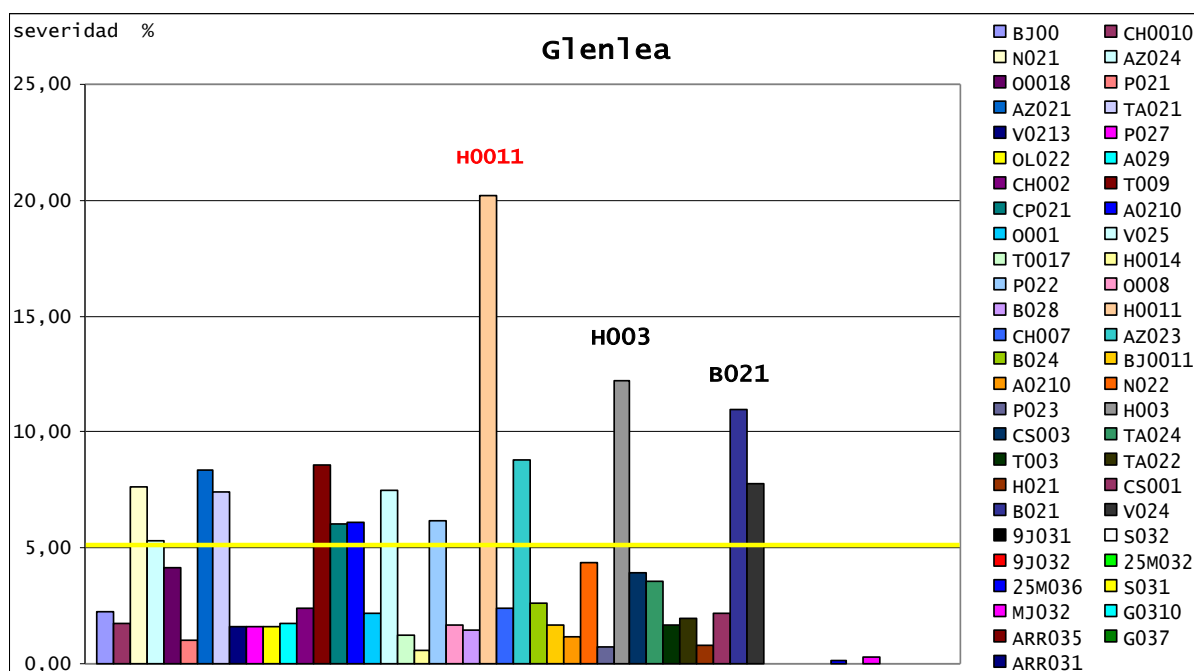
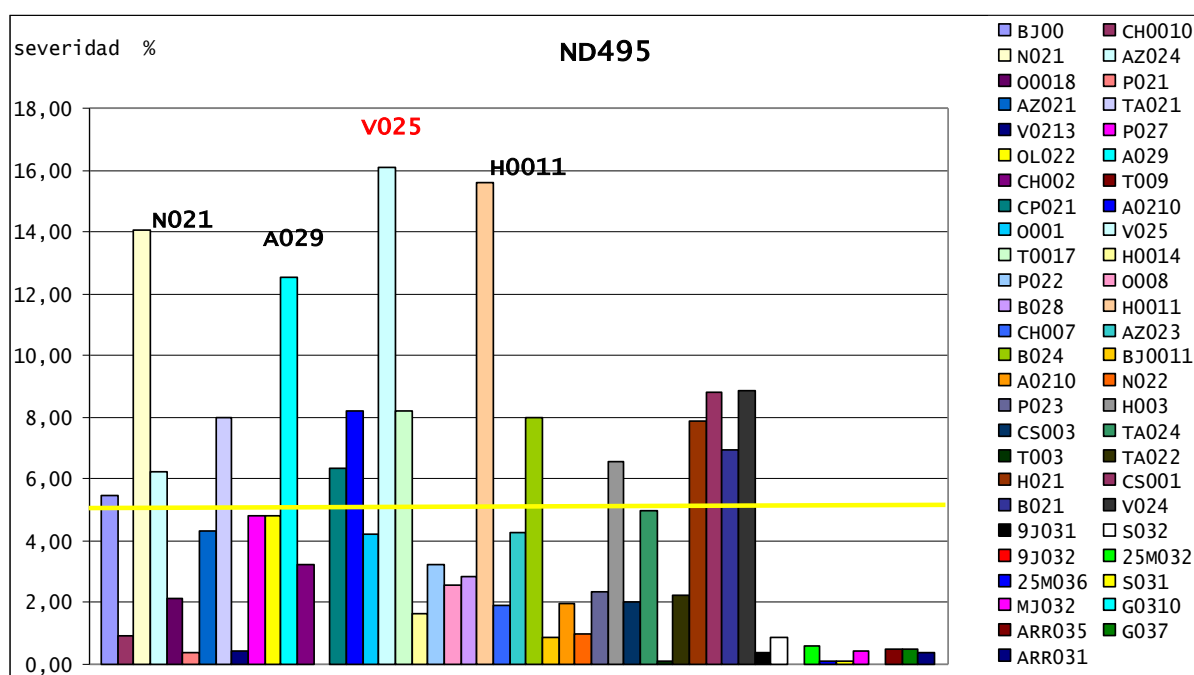
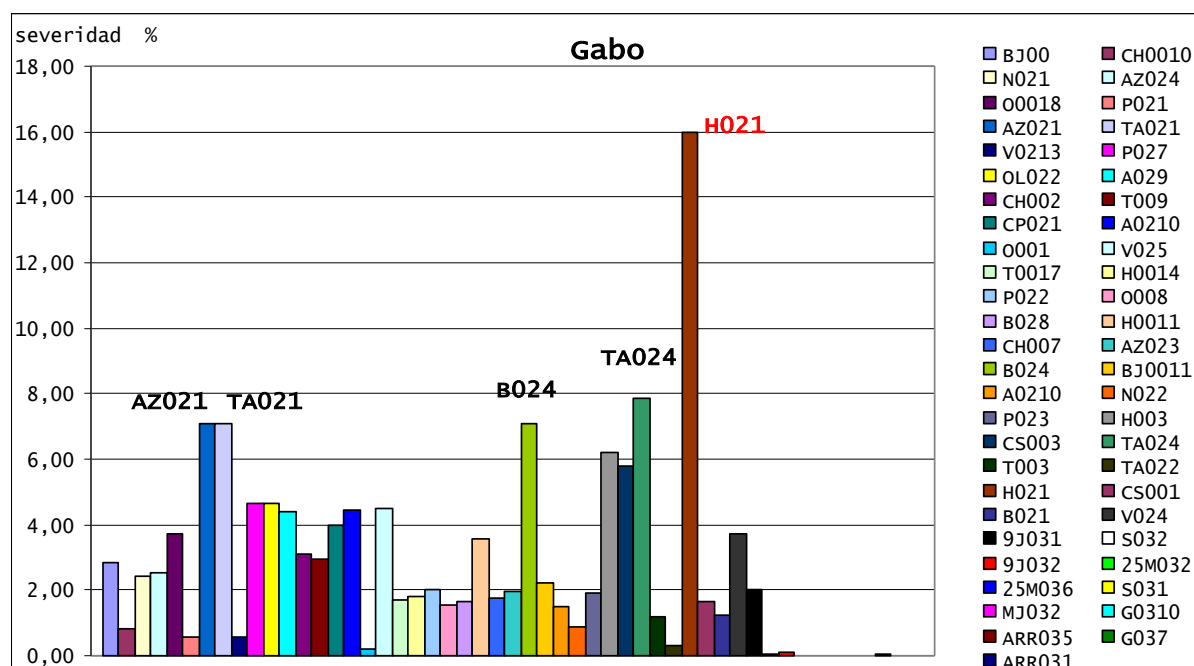


Figura 29. Medias de severidad para el cultivar ND495.



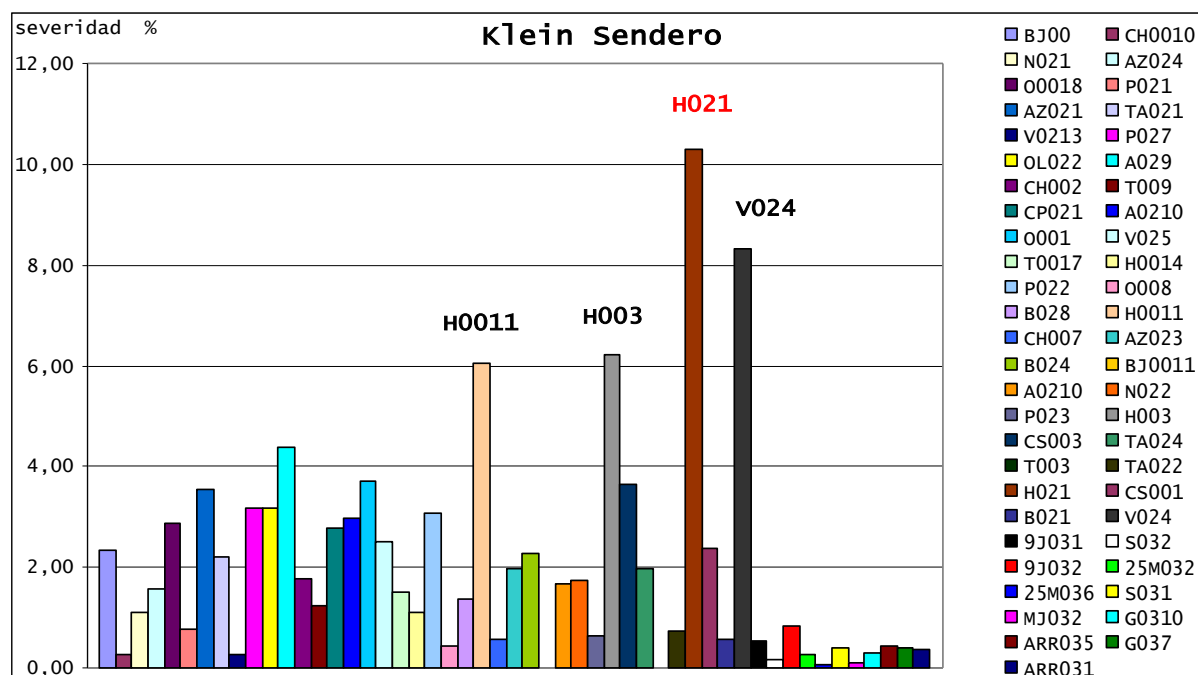
Sobre el cultivar GABO los aislamientos H021, TA024, H003, B024, AZ021 y T021 también produjeron valores de severidad del 5% o más (Figura 30).

Figura 30. Medias de severidad para el cultivar Gabo.



En el cultivar KLEIN SENDERO los aislamientos principalmente de Los Hornos (H0011, H003 y H021) y V024 provocaron una severidad del 5% o más (Figura 31).

Figura 31. Medias de severidad para el cultivar Klein Sendero.



En los cultivos BUCK HALCÓN y KLEIN DRAGÓN sólo los aislamientos N021 y BJ00, presentaron valores del 5% o más de severidad respectivamente (Figura 32 y 33).

Figura 32. Medias de severidad para el cultivar Buck Halcón.

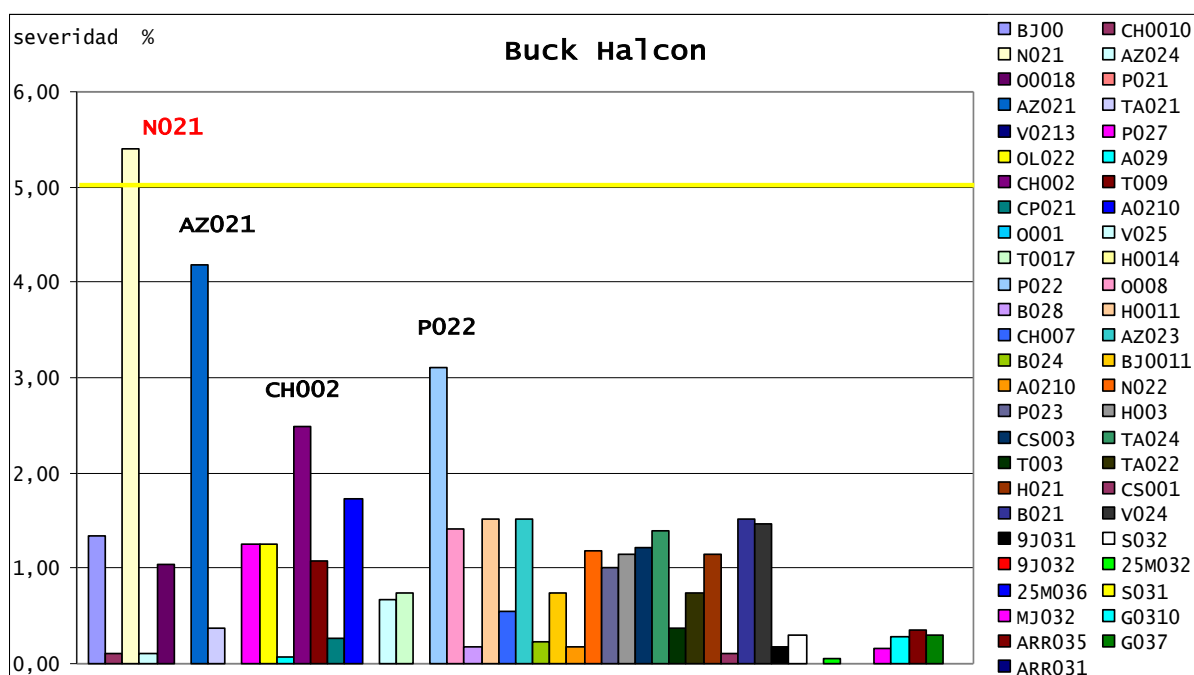
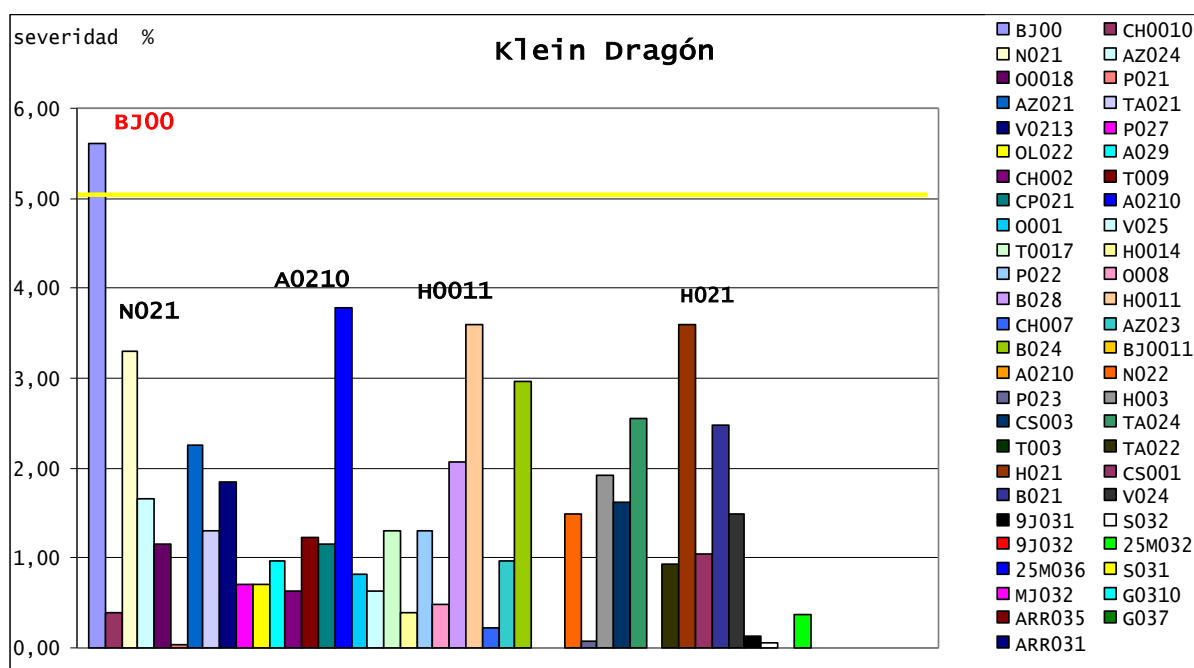


Figura 33. Medias de severidad para el cultivar Klein Dragón.

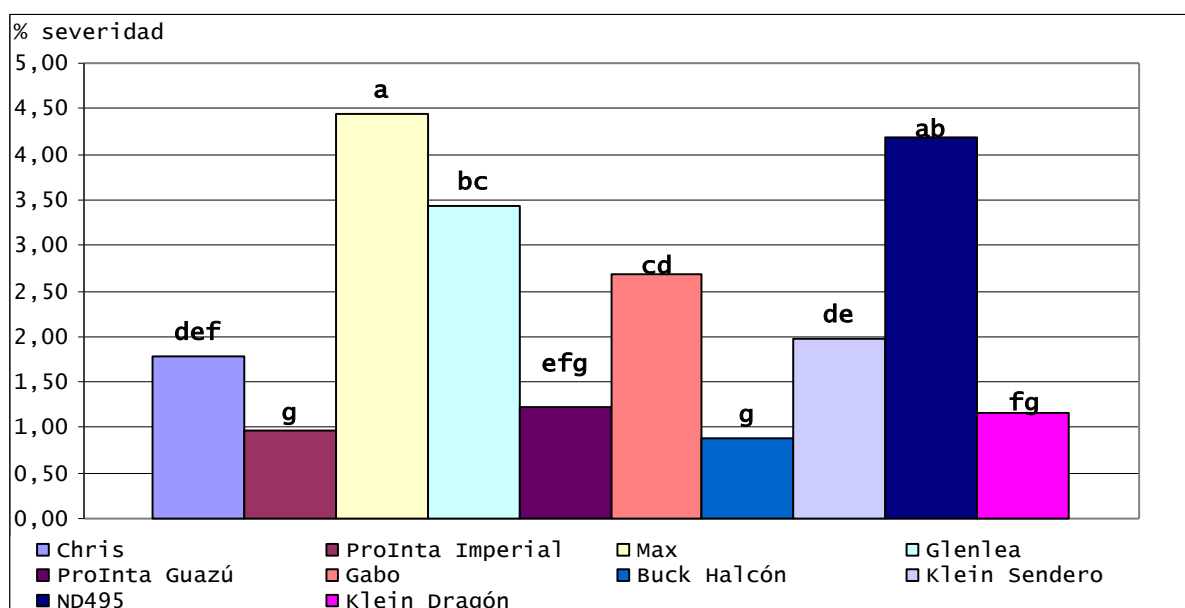


Teniendo en cuenta los valores de severidad, los cultivos seleccionados como diferenciales permitieron detectar diferencias

de virulencia en el 37% de los aislamientos de *P. tritici-repentis* analizados.

El cultivar MAX resultó ser el más susceptible seguido por ND 495, que presentaron valores de severidad acumulada promedio del orden del 5% (Figura 34).

Figura 34. Porcentaje de severidad acumulada por cultivar



4.2. Prueba de patogenicidad 2004

Los primeros síntomas comenzaron a visualizarse a las 72 hs de realizada la inoculación. En esta prueba los tipos de reacción no se diferenciaron como en PI. En este caso se observó el síntoma típico de la MA (NecCl) para la totalidad de los cultivares analizados (Anexo Figura 35). Con este grupo de cultivares no se pudieron diferenciar a los aislamientos entre sí por el tipo de reacción. Sin embargo, el análisis de la varianza para el porcentaje del área foliar lesionada (ANOVA) indicó diferencias significativas entre los aislamientos, los cultivares y la interacción aislamiento x cultivar (Tabla 13).

Tabla 13. Análisis de la varianza (ANOVA) para la severidad provocada por los aislamientos de *P. tritici-repentis* en PII 2004.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios
Bloques	2	12.924	6.462
Aislamientos	154	1731.312	11.242 ***
Error	308	2656.297	8.624
Cultivares	7	382.214	54.602 ***
Aislamiento x cultivar	1078	6354.996	5.895 ***
Error	2170	777.449	3.583
Total	3719	18913.192	

CV= 27.70%. ns: no significativo; ***: significativo al $p=0.05$.

Del análisis de la prueba de comparaciones múltiples para las medias de la severidad acumulada por aislamiento, se observó que el aislamiento 0001 fue el que presentó un mayor valor promedio de severidad acumulada, seguido por V022 y 00017. Del aislamiento más virulento (0001) se diferenciaron significativamente grupos de aislamientos de acuerdo al grado de severidad acumulada (Tabla 14). Todos los aislamientos fueron patógenos excepto CP021, AZ023 y 00014 que no provocaron enfermedad sobre ninguno de los cultivares inoculados.

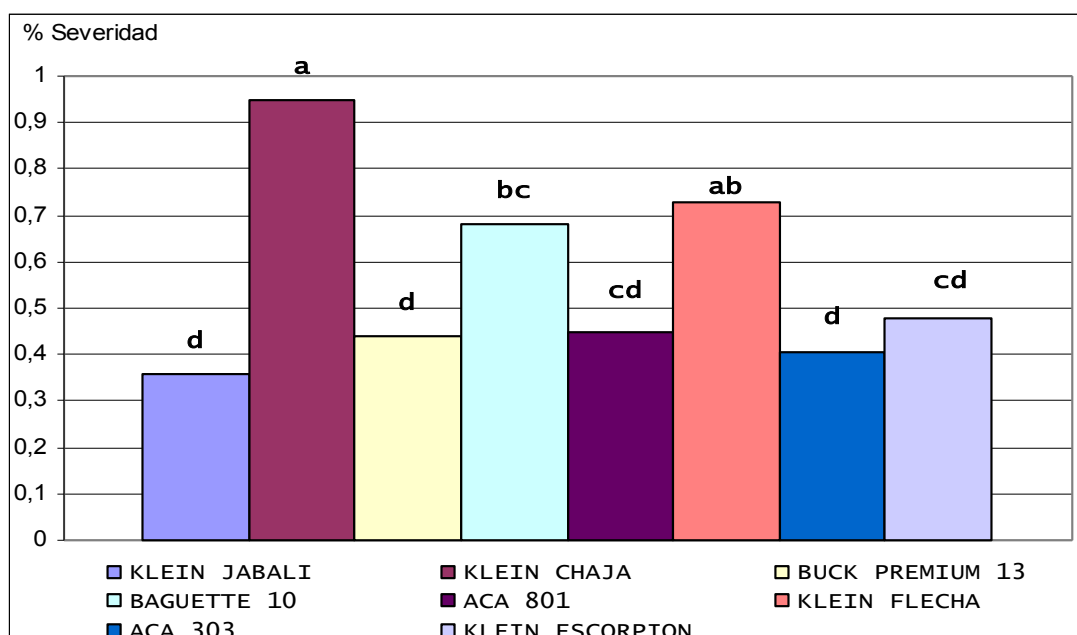
Tabla 14. Medias de severidad acumulada de cada aislamiento sometidas a prueba de comparaciones múltiples (Tukey, $p=0.05$).

AISLAMIENTOS	MEDIAS
--------------	--------

o001	2.095 a
v022	1.797 ab
o0017	1.677 abc
TA022-C043-S031-S032-H008-H004-B0210-A0210-A029-H015-25M033-AZ021-O0012-G0333-H0119-G035-ARR035-H0014-O0019-A021-OL022-25M035-TA021-G034-B026-B024-V0214-B022-CS001-AZ024-P022-P026-AD031-B025-O0011-ARR034-G0327-V025-H0011-T009-H003-G0326-G0325-T006-H016-C041-G0320-G0317-H012-CH002-B033-CH0010-CH007-N022-G0322-T008-V0213-ARR031-25M034-G0329-G0328-9J031-CK034-G0319-H013-N021-H007-B027-CH004-B023-B028-G0300-H006-B029-O0020-H021-G0334-G0324-CHI0313-O008-9J032-G0312-H0018-BJ0012-H0111-CH009-H0113-MJ032-V021-BJ0011-CH008-P021-V0212-P028-AZ022-G0336-G0323-T001-CH005-25M032-P027-G0310-B021-H0110-H0019-G0311-G0321-O0015-G0318-G0313-C042-25M036-G032-TA024-P023-G0316-V024-H0124-G0315-H001-25M031-G0331-G036-T0017-O0018-G0334-G0330-BJ001-G039-G038-H0017-P032-P031-CH006-G031-H0115-T0012-H0012-H013	1.491-0.568 abcd
G037-H0114-MJ031-CK033-CK032-25M037-CS002	0.055-0.090cd
CP021-AZ023-O0014-FH041	0-0.017 d
Las medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias significativas entre ellas (p=0.05).	

El % de severidad acumulado por cultivar denotó que los cultivos K. CHAJA, seguido por K. FLECHA y BAGUETTE 10 fueron los más afectados (Figura 36).

Figura 36. Medias de severidad acumulada por cultivar para la PII año 2004.



Las medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias significativas entre ellas ($p=0.05$).

Se observó la presencia de interacciones (aislamiento x cultivar) significativas para 33 de los 151 aislamientos de *P. tritici-repentis* inoculados (Tabla 15). En esta prueba a diferencia de la PI (2003), hubo aislamientos que presentaron el mismo patrón según el porcentaje de severidad provocado (TA022, 00012, A021, P026 y AD031; TA021 y 00019; P022, H008 y H0011; G035 y G0325). De acuerdo al patrón observado 25 se diferenciaron razas fisiológicas, indicando que el 16% del total de la población analizada puede diferenciarse en razas fisiológicas.

TABLA 15. Interacciones significativas aislamiento x cultivar de la prueba de patogenicidad año 2004.

Cultivar	OL022	TA022	AZ021	AZ024	O001	O0020	O0012	O0019
KLEIN JABALI	0 b	1.33 b	0 b	0 b	0 d	0 b	0 b	0 b
KLEIN CHAJA	4.66 a	8.167 a	16.00 a	3.163 a	1.773 bcd	1773 a	5.987 a	1.663 b
BUCK PREMIUM 13	0.217 b	0 b	0.66 b	0.717 ab	0 d	0 b	0.44 b	0 b
BAGUETTE 10	0.220 b	0.887 b	5.49 ab	0.107 b	1.053 bcd	0 b	0.773 b	0.883 b
ACA 801	0.053 b	0.44 b	0 b	0.773 ab	3.273 abc	0 b	0 b	0.107 b
KLEIN FLECHA	2.717 ab	0.553 b	2.48 b	1.887 ab	6.110 a	0 b	0.887 b	5.83 a
ACA 303	0.33 b	0.330 b	0.66 b	0 b	0.667 cd	2.22 a	1.22 b	0 b
KLEIN ESCORPION	0 b	0.220 b	1.32 b	0 b	3.887 ab	0 b	0 b	0 b

Las medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias significativas entre ellas ($p=0.05$).

Cultivar	O0017	P022	P026	S031	S032	AD031	ARR034	ARR035
KLEIN JABALI	0.107 b	0 b	0.277 b	0.887 bc	1.387 ab	0 b	0.167 b	0.553 b
KLEIN CHAJA	5.993 a	0.833 b	3.943 a	4.497 a	5 a	4.05 a	3.660 a	5.830 a
BUCK PREMIUM 13	0.387 b	0 b	0.387 b	0.110 c	0.277 b	0 b	0.220 b	1.643 ab
BAGUETTE 10	2.11 a	5.443 a	0.387 b	0.663 bc	1.887 ab	0.83 b	1.050 ab	0 b
ACA 801	0.163 b	1.107 ab	0.663 b	0.883 bc	0.663 ab	0 b	0.55 ab	0 b
KLEIN FLECHA	1.773 a	0.997 b	0.667 b	2.773 ab	1.720 ab	0.883 b	0.11 b	0 b
ACA 303	0.387 b	0 b	0 b	0.107 c	0.44 b	0.610 b	0 b	2.163 ab
KLEIN ESCORPION	2.500 a	0 b	0 b	0 c	0 b	0.107 b	0.443 b	0 b

Las medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias significativas entre ellas ($p=0.05$).

Cultivar	25M033	H003	H008	H0011	A021	CH004	B022	G035
KLEIN JABALI	0.22 bc	0.053 b	0 b	0 b	0.33 b	0.053 b	0 b	1.833 b
KLEIN CHAJA	4.107 a	0.22 b	1.443 b	0.163 b	5.553 a	1.333 ab	1.833 ab	0.387 b
BUCK PREMIUM 13	0.053 c	0.553 ab	0.110 b	0.720 b	0.167 b	0.167 ab	0 b	1.110 b
BAGUETTE 10	0.667 bc	0 b	7 a	5.167 a	0.167 b	0.053 b	0.333 b	6.053 a
ACA 801	1.22 abc	0 b	2.110 ab	1.110 ab	1.167 b	0 b	0 b	0.497 b
KLEIN FLECHA	2.940 ab	0.553 ab	0 b	0 b	0.443 b	0 b	0 b	0 b
ACA 303	0.22 bc	4.720 a	0.053 b	97 0 b	0.667 b	0 b	5.167 a	0.333 b
KLEIN ESCORPION	0 c	1.110 ab	1.773 b	0.610 b	0.167 b	2.887 a	1.387 ab	0 b

KLEIN CHAJA	0.387 b	0 b	0.387 b	1.330 ab	0.607 ab	0.273 b	0 b	0.053 ab	0.217 b
BUCK PREMIUM 13	1.110 b	0 b	0.720 b	3.163 a	0.053 b	1.387 ab	2.277 ab	1.553 ab	0.053 b
BAGUETTE 10	6.053 a	0.11 b	0.163 b	1.887 ab	1.050 ab	0.940 ab	5 a	0.053 ab	1.277 ab
ACA 801	0.497 b	0 b	1.383 b	1.387 ab	4.773 a	1.667 ab	0.443 b	0.220 ab	1 ab
KLEIN FLECHA	0 b	11.053 a	0.887 b	0.443 ab	1.330 ab	0 b	0.053 b	0.110 ab	4.163 a
ACA 303	0.333 b	0.940 b	0.443 b	0.163 b	0.220 b	0.330 b	1.330 ab	0 b	2.330 ab
KLEIN ESCORPION	0 b	0.553 b	0.333 b	0.663 ab	0.220 b	5.053 a	0.940 ab	0.500 ab	0 b

Las medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias significativas entre ellas ($p=0.05$).

El análisis del % de severidad provocado por cada aislamiento de *P. tritici-repentis* sobre cada uno de los cultivares inoculados, se reveló que sobre en el cultivar K. CHAJA, seis aislamientos (TA022, AZ021, 00012, ARR035 y A021) presentaron valores mayores al 5% (Figura 37). En los cultivares K. JABALI y K. ESCORPION, sólo dos aislamientos provocaron una severidad del 5% (A0210 y G0333 respectivamente) (Figuras 38 y 39). En K. FLECHA, los aislamientos 0001, 00019 y TA021 presentaron valores de severidad mayores al 5% (Figura 40). En BAGUETTE 10, un aislamiento de Pergamino (P022), dos de los Hornos (H008 y H0011) y uno de Gualaguaychú (G035) provocaron valores de severidad mayores al 5% (Figura 41). En el cultivar B. PREMIUN 13, los aislamientos que más se destacaron (V022, CS001, H004, B0210 y C043) lo hicieron presentando valores que oscilaron entre 2.5 a 4% de severidad (Figura 42). Por último, en el cultivar ACA 801 no se observaron aislamientos de *P. tritici-repentis* que provocaran una severidad mayor al 5% y en ACA 303, sólo B022 provocó un 5.16% (Figuras 43 y 44 respectivamente).

Figura 37. Medias del % de severidad provocada por los aislamientos de *P. tritici-repentis* sobre el cultivar KLEIN CHAJA

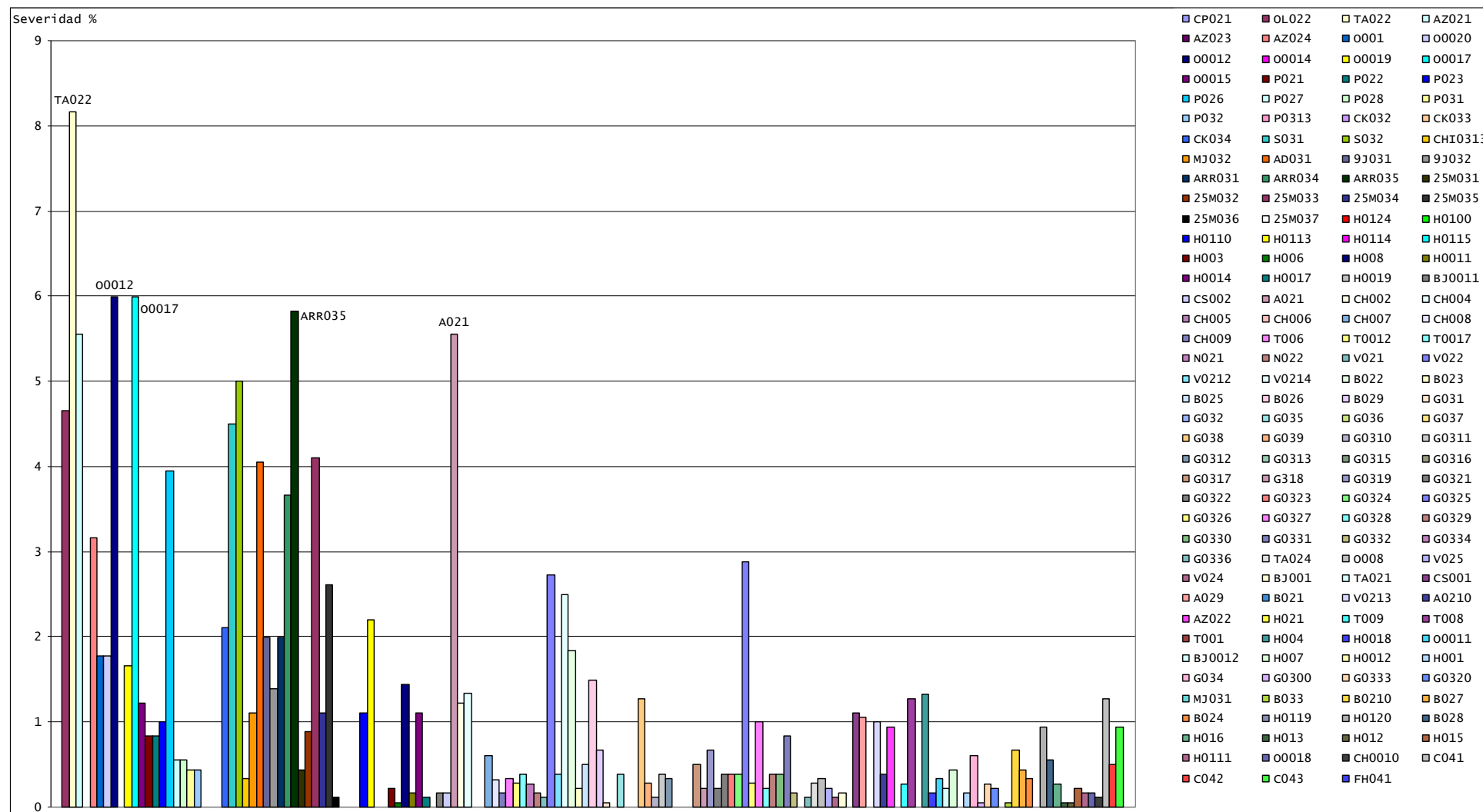


Figura 38. Medias del % de severidad provocada por los aislamientos de *P. tritici-repentis* sobre el cultivar KLEIN JABALI.

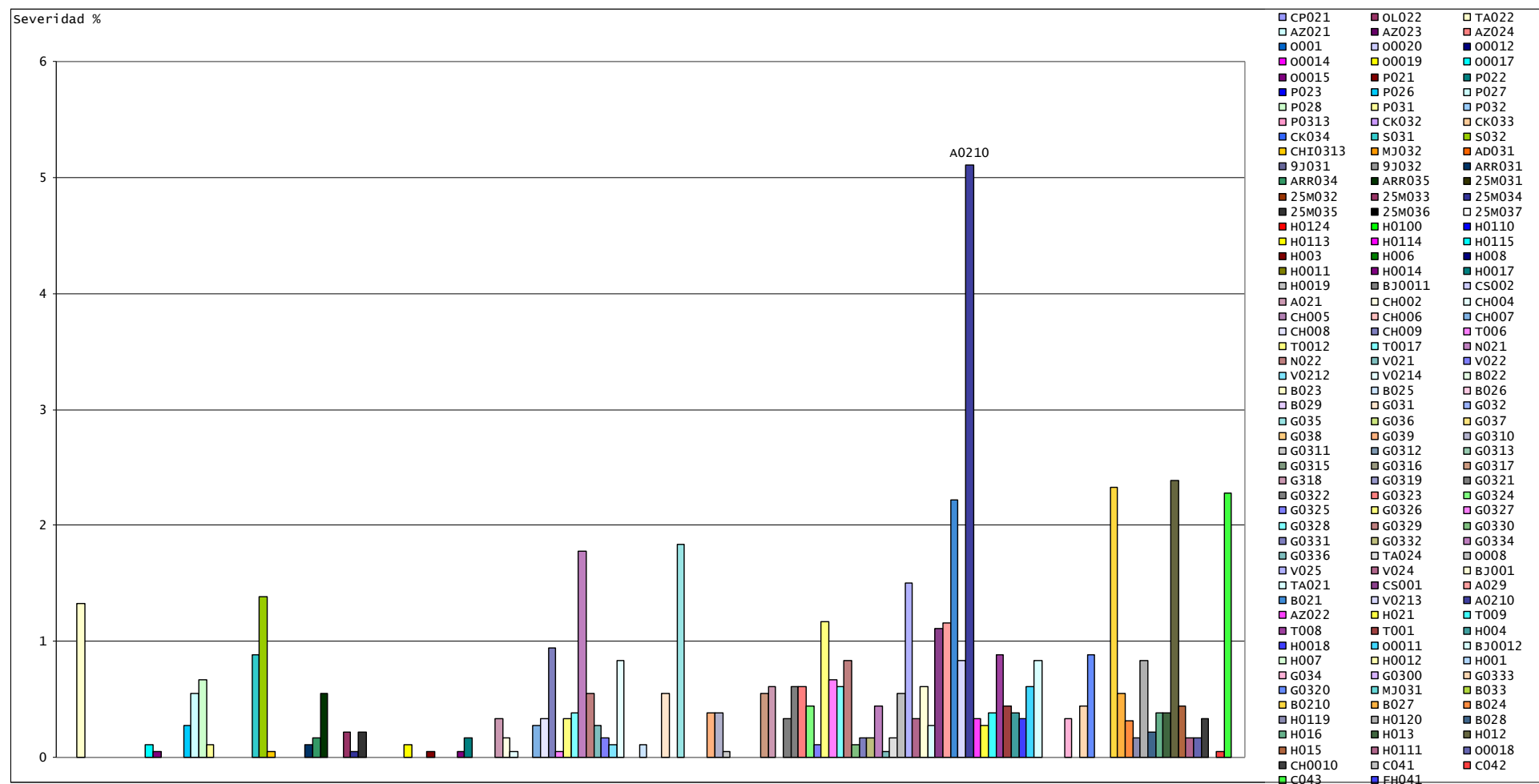


Figura 39. Medias del % de severidad provocada por los aislamientos de *P. tritici-repentis* sobre el cultivar KLEIN ESCORPION.

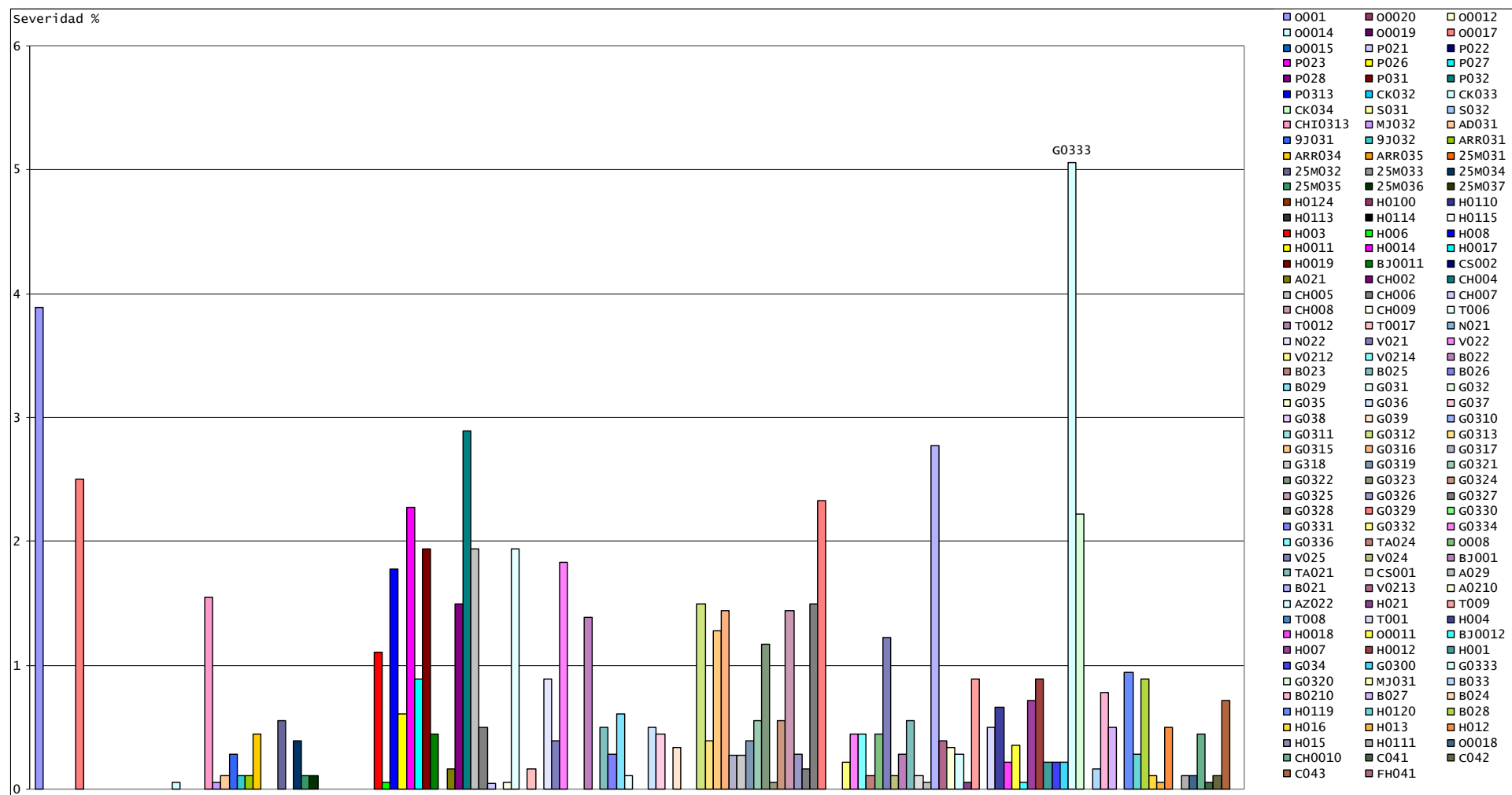


Figura 40. Medias del % de severidad provocada por los aislamientos de *P. tritici-repentis* sobre el cultivar KLEIN FLECHA.

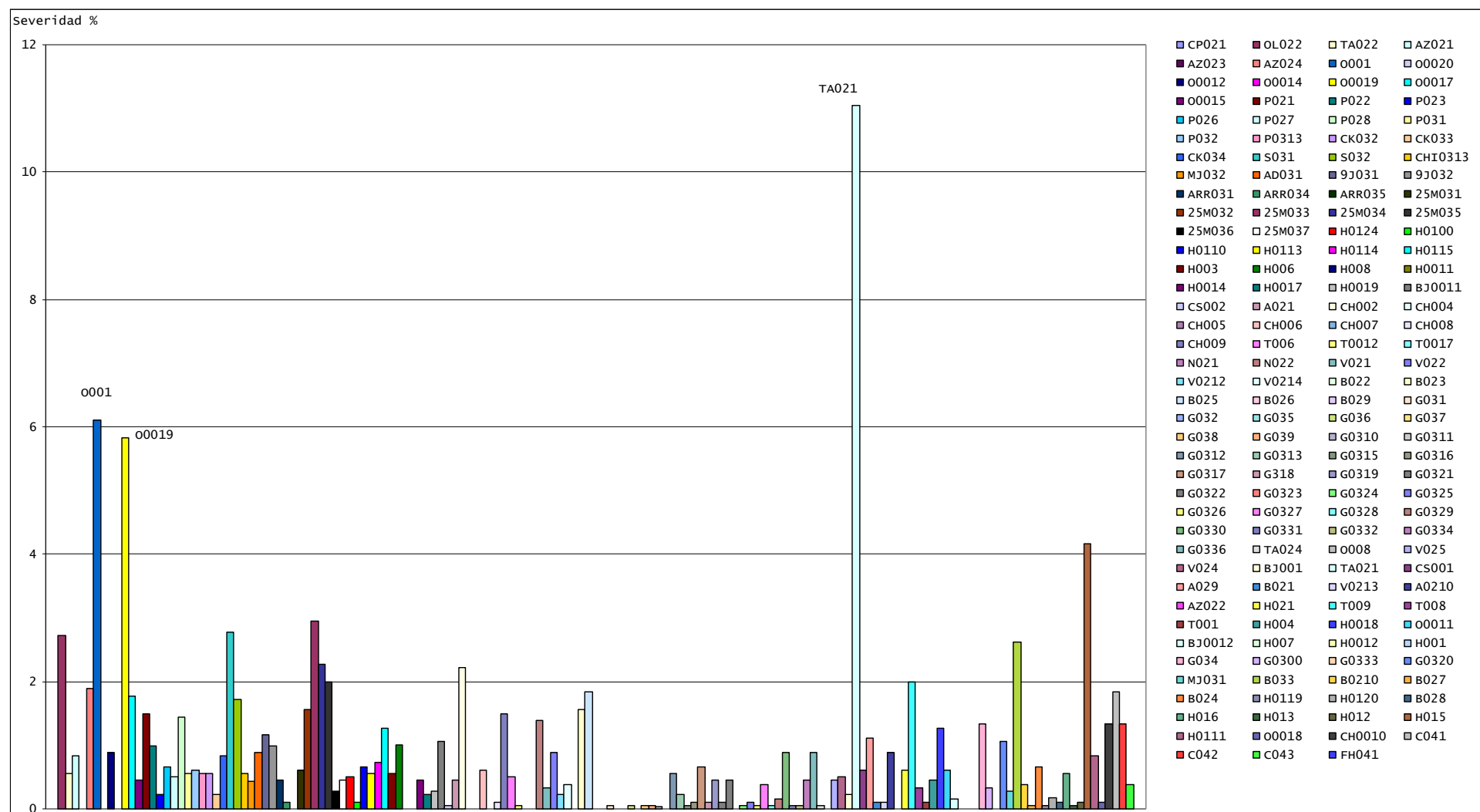


Figura 41. Medias del % de severidad provocada por los aislamientos de *P. tritici-repentis* sobre el cultivar BAGUETTE 10.

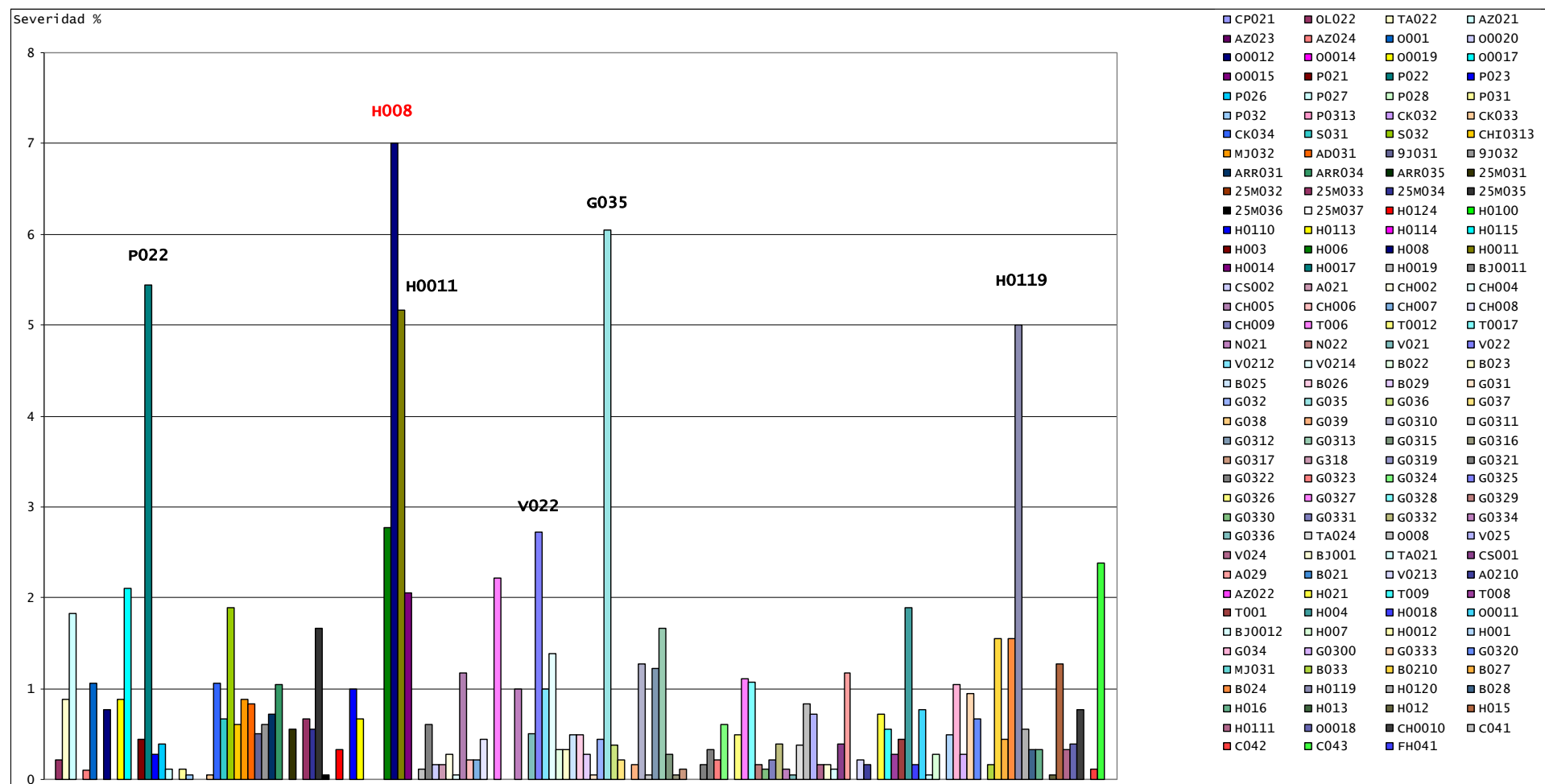


Figura 42. Medias del % de severidad provocada por los aislamientos de *P. tritici-repentis* sobre el cultivar BUCK PREMIUM 13.

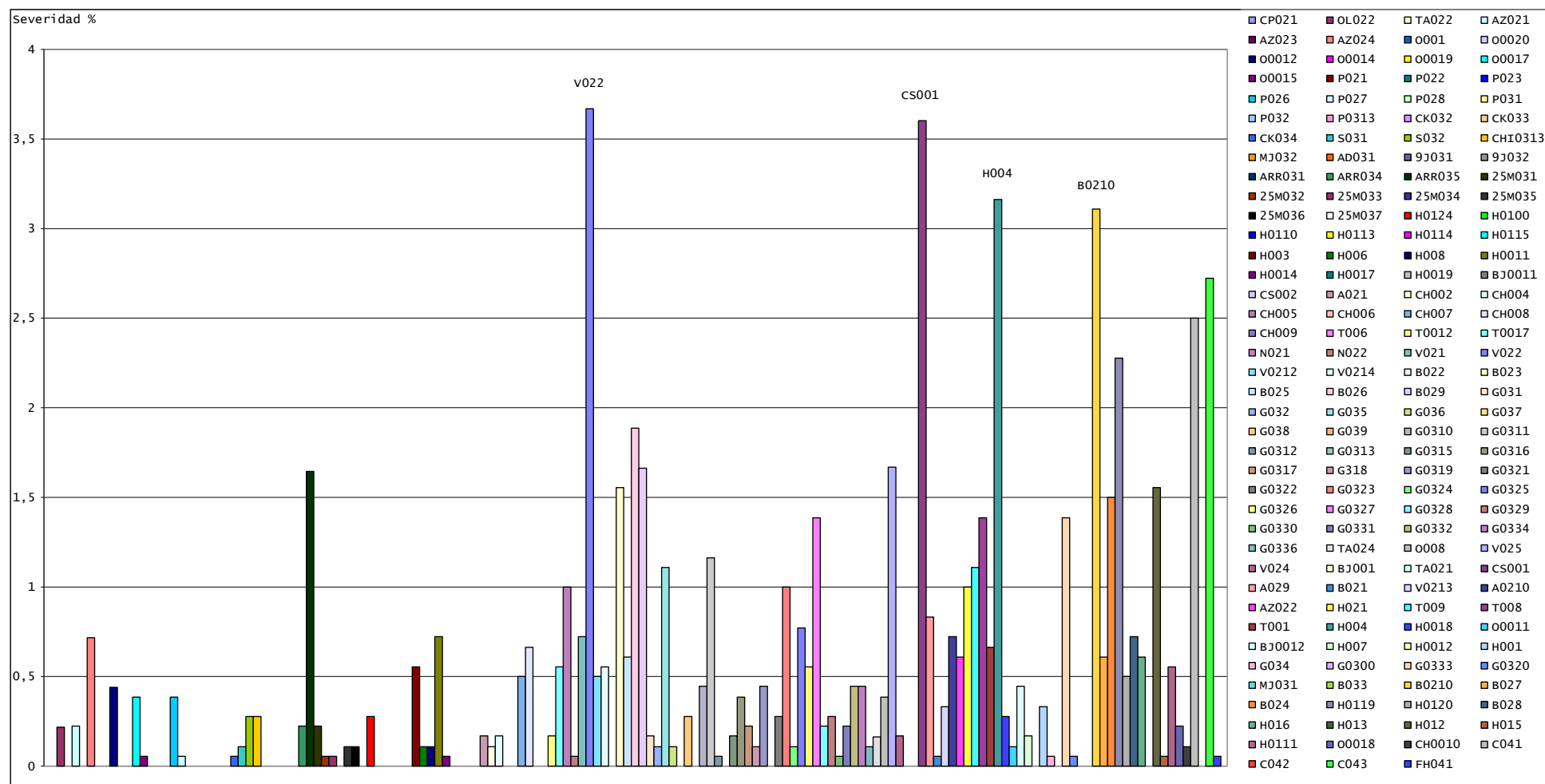


Figura 43. Medias del % de severidad provocada por los aislamientos de *P. tritici-repentis* sobre el cultivar ACA 801.

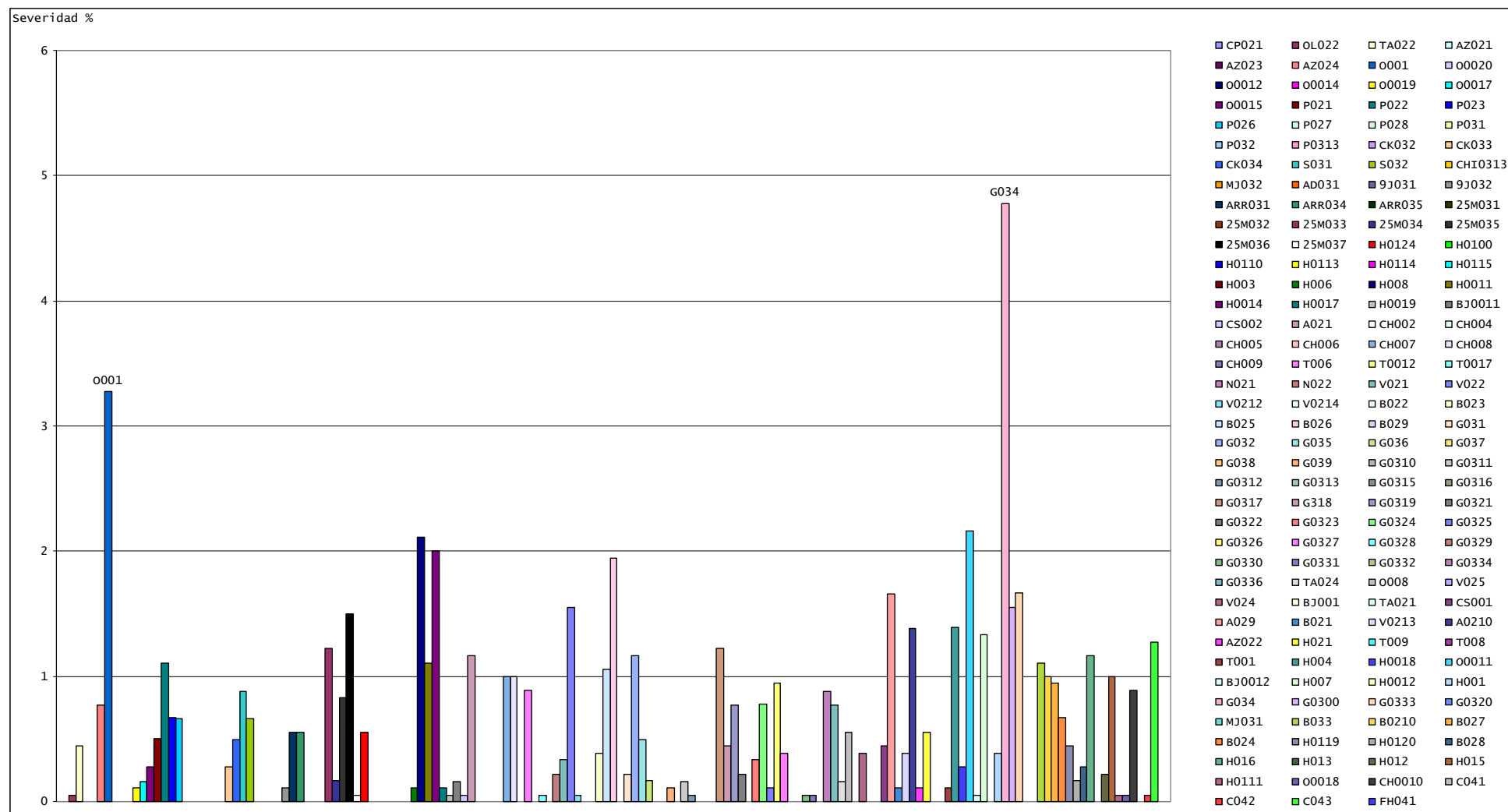
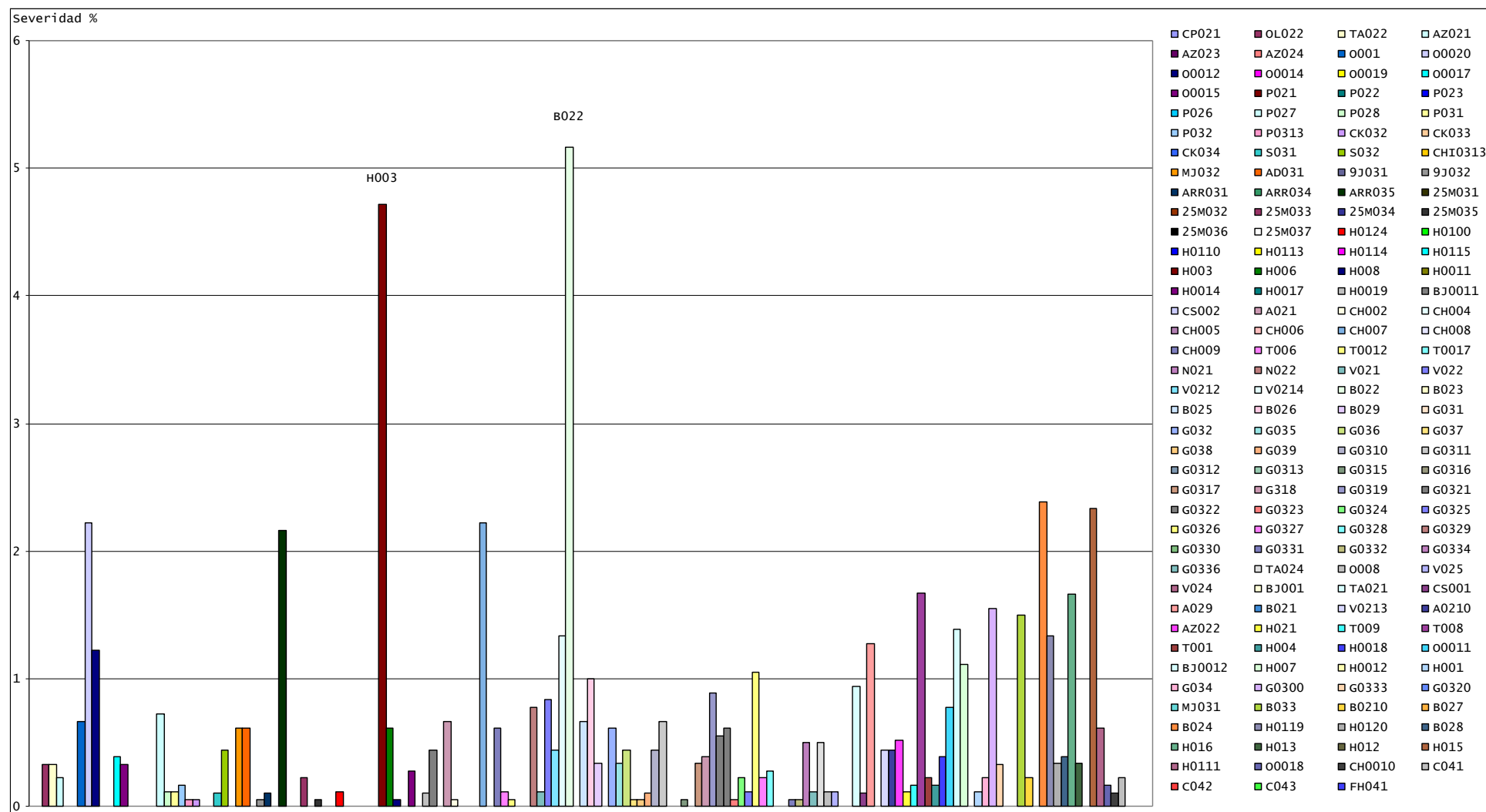


Figura 44. Medias del % de severidad provocada por los aislamientos de *P. tritici-repentis* sobre el cultivar ACA 303.



5. DISCUSION

Estudios previos han reportado diferencias en la virulencia de *P. tritici-repentis* (Ali et al., 1990; Ali y Franci, 2001_b, 2003; Gamba y Lamari, 1998; Gamba et al., 1998; Lamari y Bernier, 1989_{a,b}; Lamari y Gilbert, 1998; Lamari et al., 1995, 1998; Luz y Hosford, 1980; Krupinsky, 1987, 1992_{a,b}; Sah y Ferhmann, 1992; Schilder y Bergstrom, 1990). En algunos casos se ha considerado un número bajo de interacciones significativas, lo que indica que los aislamientos difieren en su agresividad pero no en su virulencia (Mehta, et al., 2004). Otros proponen un moderado grado de especialización fisiológica (Schilder y Bergstrom, 1990). Lamari y Bernier (1989_b) inocularon 92 aislamientos sobre 11 cultivares de trigo y reportaron interacciones específicas entre cultivar y aislamiento. De acuerdo a Vanderplank (1978, 1984) la especificidad de las relaciones hospedante-patógeno es frecuentemente indicada por la interacción significativa en el análisis de la varianza (aislamiento x cultivar y/o variedad), en ensayos donde un número de aislamientos del patógeno son probados en todas las combinaciones posibles sobre un grupo de diferenciales (cultivares o líneas del hospedante). La no especificidad es identificada por la ausencia de tal interacción.

Según Chen et al., (1994) la estructura poblacional de un patógeno es influenciada por la población hospedadora, de modo tal que el número y diversidad de los cultivares de los cuales se obtuvieron los aislamientos puede interferir en la variabilidad obtenida.

La producción de razas fisiológicas es una de las formas más importante en que los organismos fitopatógenos expresan su variabilidad. Los factores que afectan la variabilidad de los organismos fitopatógenos son: la recombinación sexual, la mutación genética, la heterocariosis y la adaptación (Fernandez Valiela,

1979). Según Fernández Valiela (1979) raza fisiológica, es una variante de la especie, en patogenicidad, comportamiento cultural u otros aspectos biológicos, pero sus caracteres específicos concuerdan con el tipo y es constante en sus caracteres genéticos. Las razas fisiológicas pueden diferir en el grado de crecimiento, medidas, color, topografía y otros caracteres de la colonia en cultivos artificiales; en sexo y mutabilidad; en requisitos de nutrición y temperatura; en la actividad enzimática; en la tolerancia al pH, en la concentración de venenos, fungicidas o toxinas; en la habilidad para producir sustancias tóxicas en las plantas; en la patogenicidad entre muchos otros caracteres. Wolf y Wolf (1947) indicaron que el reconocimiento de una raza fisiológica se basa en alguno de los siguientes criterios fundamentales; patogenicidad en hospedantes especiales; diferencias en medios de cultivo artificial, diferencias morfológicas menores y en reacciones fisicoquímicas.

La virulencia de los aislamientos de *P. tritici-repentis* probados en este estudio se mantuvo tras sucesivos repiques y subcultivos bajo condiciones de laboratorio. Esto también fue observado en cultivos obtenidos por Luz y Hosford en sus experimentos (1980), indicando que *P. tritici-repentis* puede mantener su virulencia en cultivo artificial o en el hospedante por largos períodos de tiempo.

Los aislamientos de *P. tritici-repentis* presentaron diferencias de patogenicidad reflejada en el tipo de reacción y virulencia. Los primeros síntomas en ambas pruebas se observaron a las 72 horas de realizada la inoculación. Esto coincidió con lo ya observado por Mehta et al., (2004), pero discrepó en 30 horas con lo observado por Sah y Fehrman (1992) quien trabajó con una humedad relativa entre 65-95%, mientras que en este estudio se trabajo con 50-85% de humedad relativa.

Los resultados de ambas pruebas de patogenicidad indicaron que todos los aislamientos fueron patógenos excepto CP021, AZ023 y O0014 que en el año 2004 no provocaron enfermedad sobre los cultivares inoculados.

Se observaron diferencias entre las dos pruebas de patogenicidad especialmente en el tipo de reacción producida por los aislamientos probados. En la prueba del año 2003 se pudieron diferenciar claramente los tres tipos de reacción; esto no se pudo observar en la prueba del año 2004, donde el tipo de reacción generalizado fue NecCl, indicando que el germoplasma seleccionado no permitió diferenciar los tipos de reacción.

Los cultivares MAX, ND495 y GLENLEA fueron susceptibles a la mayoría de los aislamientos probados en la prueba de patogenicidad del año 2003. Esto coincidió con lo observado por otros autores (Krupinsky, 1992_b; Sah y Ferhmann, 1992; Schilder y Bergstrom, 1990). También se observó concordancia con los resultados obtenidos por Ali et al., (2003) en el tipo de reacción (necrosis-clorosis) producido por 34 de los 47 aislamientos que provocaron síntomas en el cultivar ND495. Sin embargo, en el cultivar Glenlea se registró clorosis bajo las condiciones de este experimento. Las causas antes mencionadas, o una diferente composición en la población de aislamientos argentinos estarían justificando estos resultados y contribuirían a explicar lo anterior.

En la prueba de patogenicidad del año 2004 los valores de severidad obtenidos no permitieron clasificar los cultivares utilizados como susceptibles, moderadamente resistentes o resistentes. Se observó que el que presentó un mayor porcentaje de severidad acumulada fue K. Chajá.

Varias razones podrían explicar los bajos valores de severidad obtenidos en ambas pruebas. Entre ellas se pueden mencionar la evaluación temprana de los síntomas (nueve días de la inoculación); la presión de inóculo aplicada, las condiciones experimentales

(humedad y temperatura) del ensayo y la susceptibilidad del grupo de germoplasma seleccionado.

Se pudo detectar variación en la virulencia, reflejada en las interacciones significativas para el 37% (más de la mitad del total) de los aislamientos en la PI y para el 21% en la PII (1/6 del total). Nuevamente se observó la diferencia cuando en el grupo de diferenciales se utilizaron cultivares o líneas extranjeras.

Al igual que lo señalado por otros autores (Mehta et al., 2004) no se observó una asociación entre severidad y/o el tipo de reacción con la procedencia de los aislamientos.

En este estudio se comprobó que existen interacciones significativas entre aislamientos de *P. tritic-repentis* y cultivares de trigo. Por lo tanto, se puede hablar de una composición de aislamientos del patógeno heterogénea en su virulencia. La descripción de la estructura de la población en razas es de utilidad para la identificación de genes de resistencia, como nuevas razas de *P. tritici-repentis* son identificadas, la identificación e incorporación de nuevos genes de resistencia al germoplasma existente son necesarios (Gamba et al., 1998). Stakman (1936) manifestó que si bien en la rotura de la resistencia de un cultivo aun patógeno intervienen numerosos factores, la existencia de razas en diferentes regiones es uno de los principales. Entonces, los fitopatólogos deberán primero conocer al patógeno y su población y/o poblaciones, si pretenden lograr variedades resistentes a él.



**CARACTERIZACION DE AISLAMIENTOS ARGENTINOS DE
Pyrenophora tritici-repentis MEDIANTE EL USO
DE MARCADORES BIOQUIMICOS**

CAPITULO III

Caracterización de aislamientos argentinos de *Pyrenophora tritici-repentis* mediante el uso de marcadores bioquímicos**1. INTRODUCCION**

A nivel mundial, las poblaciones del hongo han sido clasificadas en razas de acuerdo a las síntomas provocados (por el patógeno) sobre un grupo de cultivares diferenciales de trigo utilizados internacionalmente (Ali y Franc, 2002; Lamari y Bernier, 1989^{ab} Lamari et al., 1995, 1998, 2003; 2005). Sin embargo, las clasificaciones que surgen de estas pruebas de patogenicidad, muchas veces han sido objetadas (Laterell, 1975).

Las técnicas, como las bioquímicas y moleculares basadas en el análisis de polimorfismo de enzimas o de fragmentos de DNA, posibilitaron una rápida detección de marcadores genéticos para el estudio de aspectos básicos relacionados al mejoramiento vegetal (Brammer, 2000). Los marcadores de tipo isoenzimático, merecen ser destacados ya que son controlados genéticamente por uno o varios genes, situados en un mismo loci o diferentes loci, respectivamente. Numerosos estudios de este tipo han revelado la existencia de niveles de expresión de variación genética intra e interpoblacional en una misma especie fúngica (Brammer, 2000).

El término isoenzima fue acuñado por Market y Moller (1959). Son formas múltiples de enzimas que se separan por electrofóresis de acuerdo a la carga de sus aminoácidos constitutivos (Micales et al., 1998). Estas formas múltiples de una enzima pueden presentarse en una sola especie de organismo e incluso en una sola célula.

Los marcadores isoenzimáticos suministran al investigador un gran número de marcadores en todas las especies ya que normalmente las poblaciones son polimórficas para muchos loci isoenzimáticos y

además generalmente son codominantes pudiendo ser identificadas todas las clases genotípicas correctamente sin un ensayo de progenie (Vazquez et al., 2000).

Los patrones isoenzimáticos reflejan una expresión directa del genoma de un organismo, siendo esto de valor considerable para estudios de variación entre un gran número de loci de enzimas (Micales et al., 1986). Este conocimiento también es básico para estudios taxonómicos, como complemento de estudios morfológicos, tradicionalmente utilizados en la identificación de fitopatógenos, permitiendo estimar cuantitativamente la variabilidad de diferentes aislamientos de un fitopatógeno (Castro y Bach, 1993; Mc Donald y Mc Dermott, 1993; Reynolds et al., 1983).

El uso de marcadores isoenzimáticos para el diagnóstico y determinación de la diversidad genética en organismos fitopatógenos, se debe principalmente, a su simplicidad, rapidez y amplitud de los resultados obtenidos (Teixeira et al., 2004). Santos (1996) distinguió aislamientos de *Colletotrichum gossypii* var *cephalosporoides* por medio de esta técnica. También pueden ser citados trabajos de diversidad genética en *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Andrade et al., 1997), *Fusarium moniliforme* (Camargo et al., 1997) y *Botryodiplodia theobromae* (Lima et al., 1997), reflejada por esta técnica. Además, este tipo de marcadores se han utilizado como soporte para la caracterización de la virulencia de hongos fitopatógenos tales como *Puccinia graminis*, *P. recondita*, *Ceratocystis ulmi* y *Cryphonectria cubensis* (Alfenas et al., 1984; Bernier et al., 1983; Burdon y Roelfs, 1985; Jeng y Rubbes, 1983). El sistema de estearasas, en particular, ha sido utilizado por numerosos autores en estudios de hongos fitopatógenos (Kunoh et al., 1988; Pascholati et al., 1993; Santos et al., 2004).

Existen muy pocos antecedentes acerca del uso de estos sistemas para la caracterización de variabilidad intraespecífica en *P. tritici-repentis*. Sin embargo, este sistema se ha utilizado para

diferenciarlo de otros géneros de hongos causantes de manchas foliares en trigo tal como *Bipolaris* spp (Bach y Kimati, 2004).

Existen muchos sistemas enzimáticos utilizados en estudios electroforéticos. Dentro de ellos, se consideraron para realizar este estudio, los sistemas de esterasas, fosfatasas y peroxidasas. Los dos primeros incluyen un amplio espectro de sustratos naturales, por lo que se definen como enzimas poco específicas. En cambio, las peroxidasas parece que están asociadas a la edad fenológica de los vegetales y a mecanismos de defensa y respuesta de hipersensibilidad (HR) del hospedante (Figuerola y Schugurensky, 2002).

2. OBJETIVO

- Identificar y caracterizar polimorfismos intraespecíficos de *P. tritici-repentis* mediante los sistemas isoenzimáticos de esterasas, fosfatasas y peroxidasas.

3. METODOLOGIA

3.1. Obtención del homogenato

Para la preparación de los extractivos, cada uno de los 155 aislamientos de *P. tritici-repentis* a analizar se sembraron en cinco cajas de Petri de 9 mm de diámetro con medio de cultivo general (APG). Las placas se incubaron durante siete días en estufa a 21 ± 2 °C y oscuridad. Se tuvo en cuenta que todo el material fúngico a utilizar se encontrara en la misma condición fisiológica y ontogénica. Para ello se utilizaron los cultivos originales almacenados en vaselina líquida a 4°C.

Para lograr una homogeneización del material se recolectó el micelio aéreo con una espátula previamente flameada y se lo maceró en un mortero, aplicando nitrógeno líquido para congelar rápidamente las muestras. Todos los elementos se mantuvieron en frío para evitar una desnaturalización del material.

Las muestras se homogeneizaron con 1,5 ml de buffer Tris-glicina (solución tampon) y se colocaron en eppendorf de 2ml. Estos extractivos se mantuvieron en freezer a -20°C hasta su uso.

3.2. Electrofóresis

Teniendo en cuenta la naturaleza de las enzimas, en la separación electroforética de las mismas debe tenerse en cuenta una serie de condicionantes en el protocolo, que permitan salvaguardar la actividad enzimática, mediante la cual son luego detectadas.

Para la preparación del gel de poliacrilamida, se siguió el protocolo de Wendel y Weeden, (1989).

Gel de poliacrilamida separacional para isoenzimas

	8%	10%
Archilamida 40%	7.88 ml	9.88 ml
Bis-acrilamida 2%	2 ml	2.55 ml
3M-trisHCl pH=8.8	5 ml	5 ml
Agua destilada	24.9 ml	22.4 ml
PSA 10% (persulfato)	138 μl	138 μl
TEMED	20 μl	36 μl

Peine del gel

Acrilamida 40%	1.96 ml
Bis-acrilamida 2%	1.07 ml
Tris-glicina 0.32M	5.07 ml
Agua destilada	11.97 ml
PSA 10%	100 μl
TEMED	13 μl

La siembra de los extractivos se realizó en geles de 20 calles, dos geles por vez. A cada homogenato se le agregaron 20 μl de glicerol, sembrando 100 μl para los sistemas estearasas y fosfatasas y 180 μl para peroxidasas.

La duración y el voltaje de corrida fueron de 15' a 70 mA hasta atravesar la zona del peine y luego 2 hs 30' para el resto del gel a 50 mA.

Todas las corridas se realizaron a 4°C, para reducir una posible pérdida de actividad por desnaturalización y para minimizar la misma por proteólisis.

3.3. Tinción de los geles

Después de cada separación electroforética, el sistema enzimático en estudio fue detectado por inmersión de los geles en soluciones que contenían el/los sustrato/s, sus cofactores y/o coenzimas específicos, así como otros reactivos necesarios para que las bandas de actividad pudieran ser detectadas.

Para la tinción de los geles de acuerdo al sistema a revelar se los protocolos de tinción están basados en el empleo de las soluciones propias de cada sistema enzimático (Tabla 16) (Vazquez et al., 2000).

Tabla 16. Protocolos de tinción

Estearasas	Fosfatasas	Peroxidasas
Neutralización durante 30' en 100 ml de $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ pH=7.2	----- ----- -----	Neutralización durante 30' en 100 ml de $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ pH=7.2
Acetona 4ml	Acetato de Na 0.1M 50ml	3-amino 9 etilcarbozole 75 mg
A- naftil acetato 20mg	NaX- Naphtyl Acid Phosphate 50 mg	N-N dimetilformamida 7.5 ml
B-naftil acetato 20 mg	Fast Garnet GBC sal 50mg	Na-Acetatabuffer pH=5 40ml
$\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ pH=7.2 100 ml	β -naftil acid phosphate 50 mg	CaCl_2 33 mg
Fast Blue RR 50 mg		H_2O_2 30% 75 μl
Incubar a 30°C	Incubar a 37 °C	Incubar a T ambiente
Oscuridad	Oscuridad	Oscuridad

3.4. Análisis de los patrones isoenzimáticos

Se analizaron el total de los aislamientos de *P. tritici-repentis* (Tabla 1 Cap I) obtenidos de los distintos cultivares de trigo y distintas localidades de la zona triguera de la Argentina.

Los geles se analizaron con el programa Image Master Total Lab v1.11. Se evaluó el número de bandas presentes (isoformas) en cada uno de los aislamientos. Las bandas se agruparon por regiones de acuerdo a su Rf (mm) y su tonalidad para determinar las correspondientes variantes alélicas.

Con estos datos se construyó una matriz de distancia genética a partir del índice de Nei's (1978) modificado por Neighbor (Phylip version 3.5). Se analizó usando la técnica de ligamiento promedio no ponderado (UPGMA).

Las frecuencias alélicas presentes en la población se calcularon empleando el programa POPGENE3.v1.1.2, (Yeh y Rong-cai, 1999).

Las frecuencias alélicas para los genes analizados se calcularon a partir de la fórmula:

$$F_{(x)} = \frac{\text{individuos homocigotas} + (\frac{1}{2} \text{individuos heterocigotas})}{\text{individuos analizados}}$$

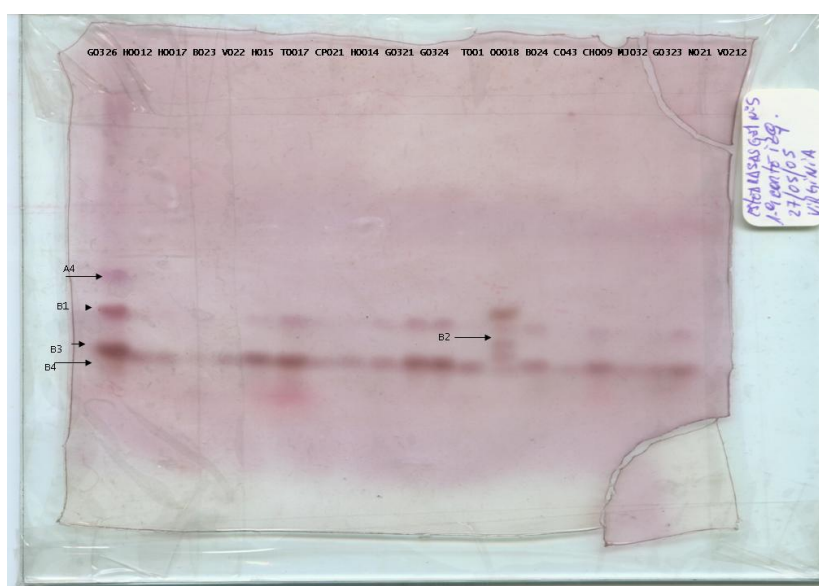
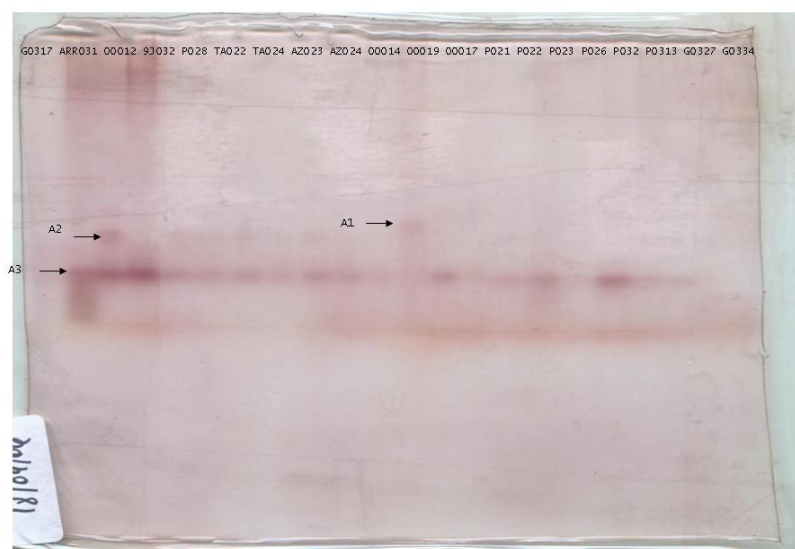
4. RESULTADOS

De acuerdo a los Rf observados (Anexo Tabla 17) se analizaron separadamente los tres sistemas revelados.

Sistema Estearasas

Para este sistema se identificaron dos genes, cada uno con cinco variantes alélicas. El gen A presentó los alelos a, A₁, A₂, A₃ y A₄ el gen B, por su parte presentó los alelos b, B₁, B₂, B₃, y B₄. Ambos genes se separaron sobre la base de su RF que varió entre 800 y 1400 mm y entre 1600 y 2200 mm respectivamente (Figura 46).

Figura 46. Revelado de sistema de estearasas.



En las cepas analizadas se observó la presencia de 21 genotipos, de los 121 genotipos posibles de obtener por las combinaciones al azar de las formas alélicas. El genotipo aaB4B4 es el que se encuentra en mayor frecuencia, después del nulo para ambos genes (aabb) (21 aislamientos). Dentro de aquellos individuos que revelaron actividad enzimática, la frecuencia de individuos homocigotos fue de 52 aislamientos para el gen A y de 61 individuos para el gen B existiendo un total de 11 y 14 individuos heterocigotas respectivamente. Se observó la presencia de nueve

aislamientos homocigotos, para ambos genes, representados por los genotipos $A_4A_4B_1B_1$ y $A_4A_4B_2B_2$. Del total de los aislamientos que expresaron actividad enzimática, sólo 15 aislamientos expresaron los dos genes (Tabla 18).

Tabla 18. Distribución de frecuencias de los genotipos presentes en la población estudiada, para el sistema de estearasas

	bb	B ₁ B ₁	B ₁ B ₂	B ₁ B ₃	B ₁ B ₄	B ₂ B ₂	B ₂ B ₃	B ₂ B ₄	B ₃ B ₃	B ₃ B ₄	B ₄ B ₄
aa	22	5	4	-	-	17	8	1	10	1	21
A ₁ A ₁	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A ₁ A ₂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A ₁ A ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A ₁ A ₄	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A ₂ A ₂	18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A ₂ A ₃	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A ₂ A ₄	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A ₃ A ₃	9	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A ₃ A ₄	4	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A ₄ A ₄	-	1	1	-	-	8	-	-	-	-	-

Se determinaron las frecuencias alélicas en base a los resultados encontrados. Como puede observarse, en ambos genes la forma alélica predominante es la nula. El resto de los alelos encontrados en el gen A están en la misma proporción. No ocurrió lo mismo con los alelos del gen B donde existe una forma alélica prevalente (B₂) con una frecuencia de 0.20 (Tabla 19).

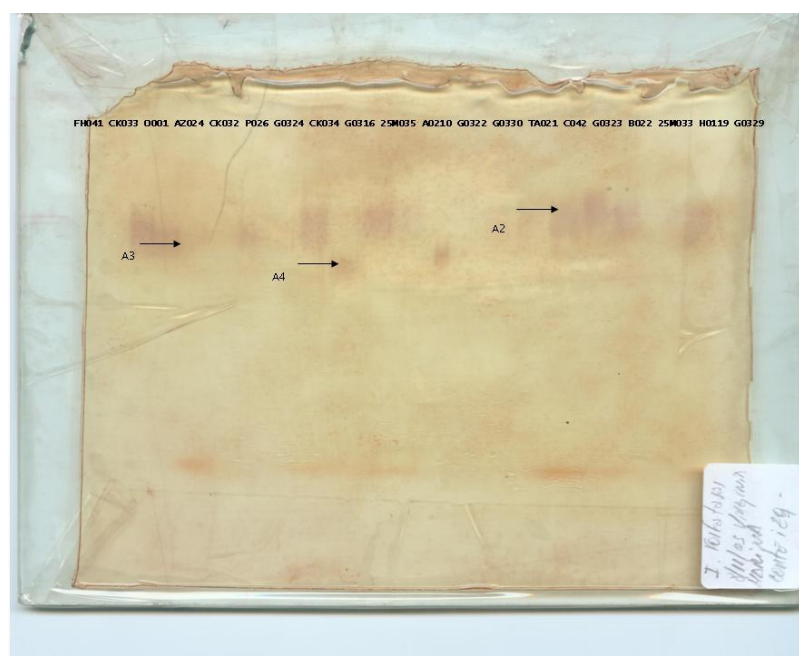
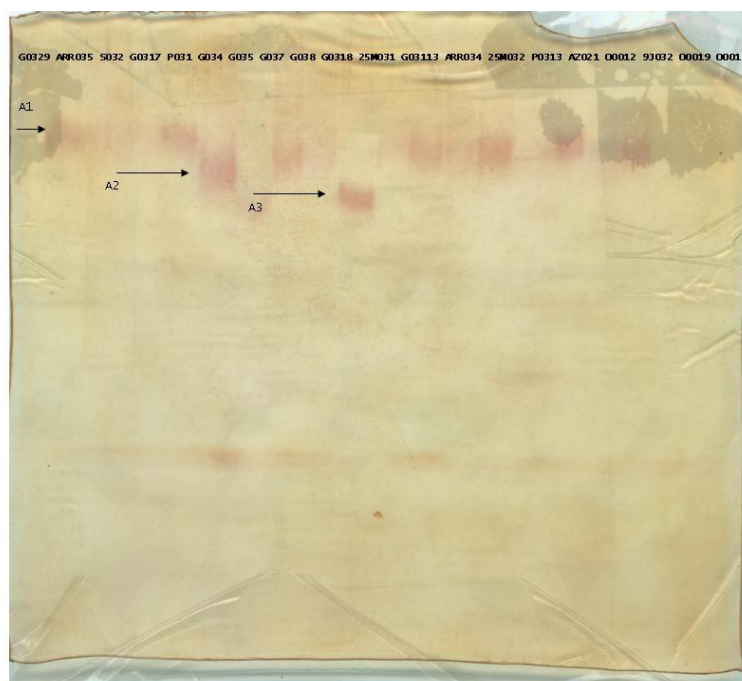
Tabla 19. Frecuencias alélicas presentes en la población para el sistema estearasas

alelos	Gen A	Gen B
a/b	0.57	0.46
A/B ₁	0.09	0.08
A/B ₂	0.13	0.20
A/B ₃	0.10	0.09
A/B ₄	0.09	0.14

Sistema Fosfatasas

Para el sistema de fosfatasa se determinó un gen A con cinco alelos a, A₁, A₂, A₃ y A₄. Los alelos del gen A se colorearon en tonalidad rojiza y sus Rf variaron entre 200 y 800 mm (Figura 47).

Figura 47. Revelado de sistema de fosfatasa



En la población analizada se observó la presencia de 8 genotipos de los 25 posibles, representados por 95 aislamientos que revelaron actividad enzimática para este sistema y 60 aislamientos

que no lo hicieron. Se observó un total de 88 aislamientos homocigotas, dentro de ellos, los más numerosos fueron A_1A_1 y A_2A_2 correspondientes a 44 y 38 aislamientos respectivamente, y un total de siete heterocigotos (Tabla 20).

Tabla 20. Distribución de frecuencias de los genotipos presentes en la población estudiada, para el sistema de fosfatasas

Genotipo	a	A_1	A_2	A_3	A_4
a	60	-	-	-	-
A_1	-	44	1	-	-
A_2	-	-	38	4	-
A_3	-	-	-	4	2
A_4	-	-	-	-	2

Se observaron las frecuencias alélicas, la forma alélica predominante es la nula, encontrándose en baja frecuencia los alelos A_3 y A_4 . (Tabla 21).

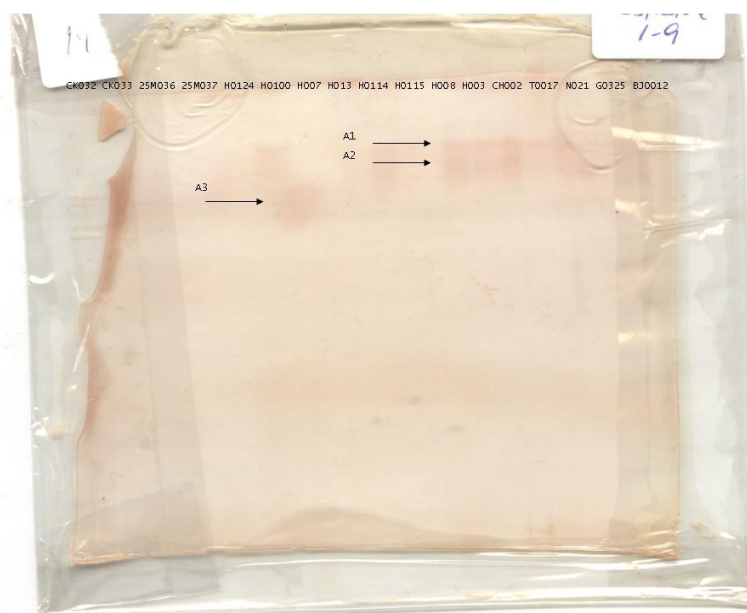
Tabla 21. Frecuencias alélicas presentes en la población para el sistema estearasas

alelos	Gen A
a	0.38
A_1	0.28
A_2	0.26
A_3	0.03
A_4	0.02

Sistema Peroxidasas

Para este sistema se identificó un gen con cuatro variantes alélicas. El gen A presentó los alelos a, A_1 , A_2 y A_3 . Los aislamientos se separaron en base de su RF que varió entre 400 y 1100 mm (Figura 48).

Figura 48. Revelado de sistema de peroxidasas



En las cepas analizadas se observó la presencia de 4 genotipos, de los 16 posibles de obtener por las combinaciones al azar de las formas alélicas. El genotipo A_2A_2 es el que se encontró en mayor frecuencia (15 aislamientos). Todos los individuos que revelaron para este sistema mostraron genotipo homocigoto. (Tabla 22).

Tabla 22. Distribución de frecuencias de los genotipos presentes en la población estudiada, para el sistema de peroxidasa.

	a	A ₁	A ₂	A ₃
a	128	-	-	-
A ₁	-	7	-	-
A ₂	-	-	15	-
A ₃	-	-	-	5

La forma alélica predominante fue la nula. El resto de los alelos encontrados en el gen A se hallaban en frecuencias semejantes (Tabla 23).

Tabla 23. Frecuencias alélicas presentes en la población para el sistema estearasa

alelos	Gen A
--------	-------

a	0.82
A₁	0.04
A₂	0.09
A₃	0.03

Se construyeron los diferentes genotipos de acuerdo a los tres sistemas (Tabla 24).

Tabla 24. Distintos genotipos de los aislamientos de *P. tritici-repentis* de acuerdo al RF en los tres sistemas enzimáticos revelados.

	LOCALIDAD	CULTIVAR	ESTEASAS	FOSFATASAS	PEROXIDASAS
CP021	Comodoro Py	Baguette 10	aaB ₃ B ₃	A ₁ A ₁	aa
OL022	Olavaria	Klein Don Enrique	aaB ₃ B ₃	A ₂ A ₃	aa
TA022	Tandil	Baguette 10	A ₁ A ₁ bb	aa	aa
AZ021	Azul	Klein Don Enrique	aaB ₄ B ₄	A ₁ A ₁	aa
AZ023	Azul	Klein Don Enrique	A ₁ A ₁ bb	A ₃ A ₄	A ₁ A ₁
AZ024	Azul	Klein Don Enrique	aabb	aa	aa
O001	Orense	Buck Sureño	A ₃ A ₃ bb	aa	aa
O0020	Orense	Buck Sureño	A ₃ A ₃ bb	aa	aa
O0012	Orense	Buck Sureño	A ₁ A ₁ bb	aa	aa
O0014	Orense	Buck Sureño	aabb	aa	aa
O0019	Orense	Buck Sureño	aabb	aa	aa
O0017	Orense	Buck Sureño	A ₁ A ₁ bb	aa	aa
O0015	Orense	Buck Sureño	A ₃ A ₄ B ₁ B ₁	A ₂ A ₂	aa
P021	Pergamino	Klein Don Enrique	A ₁ A ₁ bb	A ₃ A ₄	aa
P022	Pergamino	Klein Don Enrique	A ₁ A ₁ bb	aa	aa
P023	Pergamino	Klein Don Enrique	A ₁ A ₁ bb	aa	aa
P026	Pergamino	Klein Don Enrique	A ₁ A ₁ bb	A ₄ A ₄	aa
P027	Pergamino	Klein Don Enrique	A ₃ A ₄ bb	A ₂ A ₂	aa
P028	Pergamino	Klein Don Enrique	aaB ₃ B ₄	aa	aa
P031	Pergamino	Klein Don Enrique	A ₂ A ₂ bb	A ₁ A ₁	A ₃ A ₃
P032	Pergamino	Klein Don Enrique	A ₁ A ₁ bb	aa	aa
P0313	Pergamino	Klein Don Enrique	A ₁ A ₁ bb	aa	aa
CK032	Alberti	Klein Escudo	A ₂ A ₂ bb	A ₃ A ₃	aa
CK033	Alberti	Klein Escudo	aabb	A ₃ A ₃	aa
CK034	Alberti	Klein Escudo	aaB ₂ B ₄	A ₁ A ₁	aa
S031	Salto	Klein Escorpión	A ₃ A ₄ bb	A ₁ A ₁	aa
S032	Salto	Klein Escorpión	A ₂ A ₄ bb	aa	A ₃ A ₃
CHI0313	Chivilcoy	Klein Escorpión	A ₂ A ₃ B ₁ B ₁	A ₂ A ₂	aa
MJ032	Marcos Juárez	Klein Escorpión	aaB ₂ B ₃	A ₂ A ₂	aa
AD031	Arroyo Dulce	Baguette 10	A ₁ A ₁ bb	aa	aa
9J031	9 de Julio	Klein Escorpión	aaB ₄ B ₄	aa	A ₂ A ₂
9J032	9 de Julio	Klein Escorpión	aaB ₁ B ₁	A ₁ A ₁	aa
ARR031	Arrecifes	Buck Mataco	A ₁ A ₁ bb	aa	aa
ARR034	Arrecifes	Buck Mataco	A ₄ A ₄ B ₂ B ₂	aa	A ₃ A ₃
ARR035	Arrecifes	Buck Mataco	aaB ₁ B ₁	A ₁ A ₁	aa
25M031	25 de Mayo	Buck Mataco	aaB ₂ B ₂	aa	aa
25M032	25 de Mayo	Buck Mataco	aaB ₂ B ₂	A ₁ A ₁	aa
25M033	25 de Mayo	Buck Mataco	aaB ₂ B ₂	aa	aa
25M034	25 de Mayo	Buck Mataco	A ₄ A ₄ B ₂ B ₂	A ₁ A ₁	aa
25M035	25 de Mayo	Buck Mataco	aaB ₂ B ₂	aa	aa

25M036	25 de Mayo	Buck Mataco	aabb	aa	aa
25M037	25 de Mayo	Buck Mataco	A ₂ A ₂ bb	A ₂ A ₂	aa
H0124	Los Hornos	Buck Brasil	A ₂ A ₂ bb	A ₂ A ₂	aa
H0100	Los Hornos	Buck Brasil	A ₂ A ₂ bb	A ₂ A ₂	aa
H0110	Los Hornos	Buck Brasil	A ₂ A ₂ bb	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁
H0113	Los Hornos	Buck Brasil	A ₂ A ₂ bb	aa	aa
H0114	Los Hornos	Buck Brasil	A ₂ A ₂ bb	aa	aa
H0115	Los Hornos	Buck Brasil	A ₂ A ₂ bb	aa	aa
H003	Los Hornos	Buck Brasil	aabb	aa	A ₂ A ₂
H006	Los Hornos	Buck Brasil	A ₂ A ₂ bb	aa	aa
H008	Los Hornos	Buck Brasil	A ₂ A ₂ bb	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁
H0011	Los Hornos	Buck Brasil	aaB ₄ B ₄	aa	aa
H0014	Los Hornos	Buck Brasil	aaB ₃ B ₃	aa	aa
H0017	Los Hornos	Buck Brasil	aaB ₃ B ₃	A ₁ A ₁	aa
H0019	Los Hornos	Buck Brasil	A ₂ A ₂ bb	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁
BJ0011	Benito Juárez	Klein Don Enrique	A ₂ A ₂ bb	A ₂ A ₂	A ₁ A ₁
CS002	Coronel Suárez	Klein Don Enrique	aabb	aa	A ₁ A ₁
A021	Alberti	Klein Escudo	aabb	aa	A ₂ A ₂
CH002	Chillar	Klein Don Enrique	A ₄ A ₄ B ₂ B ₂	A ₁ A ₁	aa
CH004	Chillar	Klein Don Enrique	A ₃ A ₃ bb	A ₂ A ₂	aa
CH005	Chillar	Klein Don Enrique	A ₃ A ₃ bb	A ₂ A ₂	aa
CH006	Chillar	Klein Don Enrique	aabb	A ₁ A ₁	aa
CH007	Chillar	Klein Don Enrique	aabb	A ₂ A ₂	aa
CH008	Chillar	Klein Don Enrique	aabb	A ₂ A ₂	aa
CH009	Chillar	Klein Don Enrique	aaB ₃ B ₃	A ₁ A ₁	aa
T006	Tapalqué	Klein Don Enrique	aaB ₄ B ₄	A ₁ A ₁	aa
T0012	Tapalqué	Klein Don Enrique	aabb	A ₂ A ₂	aa
T0017	Tapalqué	Klein Don Enrique	aaB ₂ B ₃	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂
N021	Rincón Nogoyá	Baguette 10	aaB ₄ B ₄	aa	A ₂ A ₂
N022	Rincón Nogoyá	Baguette 10	aaB ₃ B ₃	A ₁ A ₁	aa
V021	Victoria	Baguette 10	aaB ₂ B ₂	A ₁ A ₁	aa
V022	Victoria	Baguette 10	aaB ₃ B ₃	aa	aa
V0212	Victoria	Baguette 10	aaB ₄ B ₄	A ₁ A ₁	aa
V0214	Victoria	Baguette 10	aabb	aa	aa
B022	Bragado	Klein Escorpión	A ₄ A ₄ B ₂ B ₂	A ₂ A ₂	aa
B023	Bragado	Klein Escorpión	aaB ₃ B ₃	aa	aa
B025	Bragado	Klein Escorpión	A ₃ A ₄ B ₁ B ₁	A ₂ A ₂	aa
B026	Bragado	Klein Escorpión	A ₃ A ₃ B ₁ B ₁	A ₂ A ₂	aa
B029	Bragado	Klein Escorpión	A ₃ A ₃ bb	aa	aa
G031	Guauguaychú	Baguette 10	A ₃ A ₃ bb	A ₂ A ₂	aa
G032	Guauguaychú	Baguette 10	aabb	aa	aa
G035	Guauguaychú	Baguette 10	A ₄ A ₄ B ₁ B ₁	aa	aa
G036	Guauguaychú	Buck Biguá	aabb	A ₂ A ₂	aa
G037	Guauguaychú	Buck Biguá	aaB ₁ B ₁	A ₁ A ₁	aa
G038	Guauguaychú	Buck Biguá	A ₄ A ₄ B ₂ B ₂	aa	aa
G039	Guauguaychú	Buck Biguá	aaB ₂ B ₂	A ₂ A ₃	aa
G0310	Guauguaychú	Buck Mataco	aaB ₂ B ₂	aa	aa
G0311	Guauguaychú	Buck Mataco	aaB ₄ B ₄	aa	aa
G0312	Guauguaychú	Buck Mataco	A ₂ A ₂ bb	A ₂ A ₂	aa
G0313	Guauguaychú	Buck Mataco	aaB ₂ B ₂	A ₁ A ₁	aa
G0315	Guauguaychú	Buck Guapo	A ₃ A ₃ bb	A ₁ A ₁	aa
G0316	Guauguaychú	Buck Guapo	aaB ₁ B ₂	A ₂ A ₃	aa
G0317	Guauguaychú	Buck Guapo	A ₄ A ₄ B ₂ B ₂	A ₂ A ₂	aa
G0318	Guauguaychú	Buck Guapo	aaB ₁ B ₁	A ₂ A ₂	aa
G0319	Guauguaychú	Buck Guapo	aaB ₁ B ₂	A ₁ A ₁	aa
G0321	Guauguaychú	Klein Chajá	aaB ₂ B ₃	A ₁ A ₁	aa
G0322	Guauguaychú	Klein Chajá	A ₄ A ₄ B ₂ B ₂	A ₁ A ₁	aa
G0323	Guauguaychú	Klein Chajá	aaB ₂ B ₂	A ₂ A ₃	aa

G0324	Gualeguaychú	Klein Chajá	aaB ₂ B ₂	A ₃ A ₃	aa
G0325	Gualeguaychú	Klein Zorzal	A ₁ A ₁ bb	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂
G0326	Gualeguaychú	Klein Zorzal	A ₄ A ₄ B ₁ B ₂	A ₁ A ₁	aa
G0327	Gualeguaychú	Klein Zorzal	A ₁ A ₁ bb	aa	aa
G0328	Gualeguaychú	Klein Zorzal	aaB ₂ B ₂	A ₁ A ₁	aa
G0329	Gualeguaychú	Klein Zorzal	aaB ₁ B ₁	A ₁ A ₁	aa
G0330	Gualeguaychú	Klein Zorzal	aaB ₂ B ₂	A ₂ A ₂	aa
G0331	Gualeguaychú	INTA Tjereta	A ₄ A ₄ B ₂ B ₂	A ₁ A ₁	A ₃ A ₃
G0332	Gualeguaychú	INTA Tijereta	aaB ₄ B ₄	A ₁ A ₁	A ₁ A ₁
G0334	Gualeguaychú	Klein Churrinche	A ₁ A ₁ bb	aa	aa
G0336	Gualeguaychú	Klein Zorzal	aaB ₄ B ₄	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂
TA024	Tandil	Baguette 10	aabb	aa	aa
O008	Orense	Buck Sureño	A ₂ A ₃ bb	A ₂ A ₂	aa
V025	Victoria	Baguette 10	aaB ₂ B ₃	aa	aa
V024	Victoria	Baguette 10	A ₃ A ₃ bb	aa	aa
BJ00	Benito Juárez	Klein Escorpión	A ₂ A ₂ bb	aa	A ₂ A ₂
TA021	Tandil	Baguette 10	aaB ₂ B ₂	aa	aa
CS001	Coronel Suárez	Klein Don Enrique	A ₂ A ₂ bb	aa	aa
A029	Alberti	Klein Escudo	A ₃ A ₃ B ₁ B ₁	A ₂ A ₂	aa
B021	Bragado	Klein Escorpión	aabb	A ₂ A ₂	aa
V0213	Victoria	Baguette 10	aaB ₂ B ₃	aa	aa
A0210	Alberti	Klein Escudo	aaB ₂ B ₂	A ₁ A ₁	A ₃ A ₃
AZ022	Azul	Klein Don Enrique	aaB ₄ B ₄	A ₁ A ₂	aa
H021	Los Hornos	Buck Brasil	A ₂ A ₂ bb	A ₂ A ₂	aa
T009	Tapalqué	Klein Don Enrique	aabb	A ₁ A ₁	aa
T008	Tapalqué	Klein Don Enrique	aaB ₄ B ₄	aa	A ₂ A ₂
T001	Tapalqué	Klein Don Enrique	aaB ₂ B ₃	aa	aa
H004	Los Hornos	Buck Brasil	aaB ₄ B ₄	A ₁ A ₁	aa
H0018	Los Hornos	Buck Brasil	A ₃ A ₃ bb	aa	aa
O0011	Orense	Buck Sureño	A ₂ A ₃ bb	A ₂ A ₂	aa
BJ0012	Benito Juárez	Klein Don Enrique	aaB ₄ B ₄	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂
H007	Los Hornos	Buck Brasil	A ₃ A ₄ bb	A ₁ A ₁	A ₂ A ₂
H0012	Los Hornos	Buck Brasil	aaB ₂ B ₃	A ₁ A ₁	aa
H001	Los Hornos	Buck Brasil	aaB ₄ B ₄	A ₂ A ₂	aa
G034	Gualeguaychú	Baguette 10	A ₂ A ₄ bb	A ₁ A ₁	aa
G0300	Gualeguaychú	Baguette 10	aabb	A ₂ A ₂	aa
G0333	Gualeguaychú	Klein Churrinche	aaB ₁ B ₂	aa	aa
G0320	Gualeguaychú	Buck Chajá	aaB ₂ B ₂	A ₁ A ₁	aa
MJ031	Marcos Juárez	Klein Escorpión	aaB ₄ B ₄	aa	aa
B033	Bragado	Klein Escorpión	aaB ₄ B ₄	aa	A ₂ A ₂
B0210	Bragado	Klein Escorpión	aabb	A ₂ A ₂	aa
B027	Bragado	Klein Escorpión	aabb	A ₂ A ₂	aa
B024	Bragado	Klein Escorpión	aaB ₁ B ₂	aa	aa
H0119	Los Hornos	Buck Brasil	aaB ₂ B ₂	A ₂ A ₂	aa
H0120	Los Hornos	Buck Brasil	aabb	aa	A ₂ A ₂
B028	Bragado	Klein Escorpión	aaB ₄ B ₄	aa	aa
H016	Los Hornos	Buck Brasil	A ₂ A ₂ bb	A ₂ A ₂	aa
H013	Los Hornos	Buck Brasil	aaB ₄ B ₄	A ₂ A ₂	aa
H012	Los Hornos	Buck Brasil	aaB ₄ B ₄	A ₁ A ₁	aa
H015	Los Hornos	Buck Brasil	aaB ₃ B ₃	A ₁ A ₁	aa
H0111	Los Hornos	Buck Brasil	A ₃ A ₄ bb	A ₂ A ₂	aa
O0018	Orense	Buck Sureño	aaB ₃ B ₃	Aa	aa
CH0010	Chillar	Klein Don Enrique	aaB ₄ B ₄	Aa	aa
C041	Alberti	Klein Don Enrique	aaB ₄ B ₄	A ₁ A ₁	aa
C042	Alberti	Klein Don Enrique	aaB ₂ B ₂	A ₁ A ₁	aa
C043	Alberti	Klein Don Enrique	aaB ₂ B ₃	A ₁ A ₁	aa
FH041	Los Hornos	<i>Festuca</i> sp	aabb	A ₃ A ₃	A ₂ A ₂

Referencias: aa = alelo nulo; A = gen A; A₁, A₂, A₃, A₄ = alelos para el gen A

bb = alelo nulo; B = gen B; B₁, B₂, B₃, B₄ = alelos para el gen B

A partir del dendrograma obtenido para la totalidad de los aislamientos, se observó la presencia de 12 grupos para una distancia genética del 50%. No se encontró relación entre los agrupamientos respecto a la localidad o el cultivar de origen, ya que aislamientos de diferentes origen se encuentran compartiendo grupos (Figura 45).

En el grupo 1 se encontraron 11 aislamientos procedentes de ocho cultivares diferentes, de los cuales siete son de Gualaguaychú, uno de Bragado, uno de Comodoro Py, uno de Chivilcoy y uno de Pergamino. En este grupo se observaron 11 genotipos. El grupo 2 estuvo conformado por 27 aislamientos procedentes de 12 localidades y cuatro cultivares, representados en 17 genotipos. A diferencia del grupo anterior los aislamientos reunidos en este grupo provienen de más localidades, pero el número de cultivares es menor, representados por B. Brasil, B. Mataco, K. Don Enrique, Baguette 10 y K. Escorpión. El grupo 3 se formó con 11 aislamientos provenientes de nueve localidades y cinco cultivares, situación semejante al grupo 1. Sin embargo, el número de genotipos en este grupo bajo a ocho. El grupo 4 estuvo conformado por 19 aislamientos representando 12 localidades y 12 cultivares. Fue uno de los grupos más variables de acuerdo a estas características de origen y en cuanto al número de genotipos, presentando 16 diferentes. El grupo 5 estuvo conformado solo por dos aislamientos (G035 y G038), que si bien son ambos de Gualaguaychú, provienen de diferentes cultivares (Baguette 10 y B. Bigúa) respectivamente y se diferencian del grupo 4 porque presentan nulidad tanto para fosfatasa como para peroxidasas. El grupo 6 se formó a partir de 28 aislamientos procedentes de 13 localidades y ocho cultivares, y presentó 16 genotipos. En el grupo 7 sólo se separa un aislamiento (P0313) proveniente de Pergamino y del cultivar K. Don Enrique. El grupo 8 se formó con 18 aislamientos provenientes de 10 localidades y 10 cultivares, mostrando 12

genotipos. El grupo 9 quedó conformado por 13 aislamientos originarios de siete localidades y cuatro cultivares, con una presencia de nueve genotipos. El grupo 10 se formó con seis aislamientos procedentes de cinco localidades y cinco cultivares, representando seis genotipos. Otro grupo fue el 11 integrado por 13 aislamientos originarios de ocho localidades y seis cultivares, este grupo presentó 10 genotipos. Por último, el grupo 12 que fue uno de los menos numerosos, incluyendo cinco aislamientos provenientes de cuatro localidades y cuatro cultivares, representando cuatro genotipos diferentes.

Figura 45. Dendrograma para los aislamientos de *P. tritici-repentis* según el polimorfismo observado para los tres sistemas de isoenzimas (UPGMA)

Referencias: ● Baguette 10; ■ K. Don Enrique; ■ K. Escorpion;
 ■ K. Zozal; □ K. Escudo; ■ K. Chorrinche; ■ Chajá; ■
 Biguá; ■ B. Guapo; ■ B. Brasil; ■ B. Mataco; ■ B. Sureño; ■ INTA
 Tijereta.

5. DISCUSION

Los principales grupos de sustancias que secretan los patógenos en las plantas y que al parecer participan directa o indirectamente en la aparición de una enfermedad están constituidos por enzimas, toxinas, reguladores de crecimiento y polisacáridos (Agrios, 2004).

La electroforesis ha sido utilizada para estudios de taxonomía, fisiología, genética y bioquímica para evidenciar la presencia de proteínas o isoenzimas (Castro y Bach, 1993). Muchas veces la interpretación de bandas proteicas ha sido problemática, debido a el gran número en que se presentan (Shipton y Mac Donald, 1970). Es entonces que diversos autores han recomendado el análisis de patrones isoenzimáticos como una posible herramienta para complementar estudios de sistemática y genética fúngica (Garber y Behara, 1966; Bonde, et al., 1993, Micales et al., 1986; Reedy y Stahmann, 1972). De acuerdo a Lu y Groth (1987), el estudio de las isoenzimas se ha utilizado en muchas áreas, entre ellas a) taxonomía de patógenos, b) interpretación de relaciones bioquímicas patógeno-hospedante y c) caracterización de poblaciones de hongos.

La movilidad de las bandas isoenzimáticas en un gel de elctroforesis depende del tamaño de la molécula, reflejado a través del Rf, el cual es considerado un criterio para identificar diferencias y similitudes entre aislamientos dentro de una misma especie. Sin embargo, hay que resaltar que no significa igualdad genética entre los aislamientos, porque para ellos existen otros caracteres a considerar, como por ejemplo la concentración enzimática, reflejada por la intensidad del color de la banda (Chen et al., 1992; Lima y Menezes, 2002).

Como en otros estudios (Chen et al., 1992; Junqueira et al., 1987; Matsumura, 1991; Petrunak y Christ, 1992; Santos et al., 2004), se utilizó esta técnica a fin de detectar polimorfismos intraespecíficos de los aislamientos de *P. tritici-repentis*. Del análisis se observó que un número importante de ellos revelaron para el sistema de estearasas, en menor medida para fosfatasas y casi nulo en peroxidasas.

En los revelados para los aislamientos de *P. tritici-repentis*, se observaron polimorfismos en los tres sistemas, pero no se observaron diferencias marcadas en la intensidad del color de las bandas. En estudios previos sobre especies de Dematiaceas, el sistema de estearasas fue el que desarrolló una mejor diferenciación (Bach y Kimati, 1995; 2004; Matsumura, 1991; Santos, 2004). Según Micales et al., (1998) estos polimorfismos reflejan una parte de la variabilidad genética de un organismo. El número de bandas puede reflejar el número de alelos presentes en un sistema que depende de su condición nuclear (mono o heterocariótico) y del nivel de ploidía (haplo o diploide) en el momento de la extracción del homogenato. Estas variaciones se reducen al utilizar cultivos monospóricos (Micales et al., 1998), tales como los utilizados en este estudio.

Matsumura (1991) observó variabilidad entre aislamientos de *Bipolaris sorokiniana* provenientes del mismo cultivar así como también de diferentes cultivares. Valim-Labres et al., (1992) concluyó que el hospedante influye en el genotipo del patógeno. En poblaciones fúngicas de *Uromyces appendiculatus*, *Gliocladium* sp. y *Pythium* sp., se ha observado polimorfismo isoenzimático (Chen et al., 1992; Mc Cain y Groth, 1992). Sin embargo, en otros patógenos (como *Colletotrichum*) las especies *C. acutatum* y *C. fragariae* presentaron poca variabilidad intraespecífica a pesar de que en otras especies dentro del mismo género se ha observado gran polimorfismo (Bonde et al., 1991).

Al igual que con los caracteres morfológicos y la patogenicidad, la variabilidad hallada en este estudio fue alta, indicando que la composición de los aislamientos del patógeno es heterogénea en su expresión isoenzimática. Esta heterogeneidad fue asociada en muchos casos al tipo de parasitismo ejercido por el patógeno (Chen et al., 1992; Elias y Schneider, 1992; Petrunak y Christ, 1992). Aquellos patógenos que tengan en su ciclo biológico una etapa de saprogénesis, poseen una diversa gama de enzimas metabólicas para utilizar diferentes sustratos (Petrunak y Christ, 1992). Esto podría explicar en cierta manera los polimorfismos observados en *P. tritici-repentis* para los sistemas de esterasas y fosfatasas. Dorrance et al., (1999) concluyó que los parásitos obligados exhibieron bajos niveles de variabilidad enzimática, ya que se encuentran sobre sustratos y ambientes más uniformes comparado con los facultativos. El hecho que *P. tritici-repentis* sea un parásito de tipo facultativo y que su fase de patogénesis se pueda encontrar sobre otras gramíneas cultivadas y silvestres podría estar explicando la variabilidad observada. Igualess consideraciones fueron propuestas por Santos et al., (2004) para *B. sorokiniana*.

De acuerdo a lo expresado en el dendrograma para los aislamientos de *P. tritici-repentis* no se estableció asociación entre la presencia de una determinada banda y el origen de los aislamientos del patógeno. Este comportamiento en hongos fitopatógenos ha sido reportado por otros autores (Bocchese, 2000; Chen et al., 1992; Hellmann y Christ, 1991; Santos et al., 2004). Hellmann y Christ (1991) observaron que aislamientos de *Ustilago hordei* procedentes de Estados Unidos y de Etiopía, compartían el mismo patrón isoenzimático. Por otro lado, Chen et al. (1992) evidenció agrupamientos por origen geográfico para *Pythium graminicola* pero no observó lo mismo para aislamientos de *P. arrhenomanes* provenientes de diferentes localidades de Estados

Unidos. Bocchese (2000) no pudo establecer una relación de patrón isoenzimático con cultivar de origen para *Pyrenophora avenae*.

Dentro de las estearasas se encuentran las carboxilestearasas, que están relacionadas con mecanismos de resistencia a insecticidas, fungicidas cúpricos, plaguicidas y compuestos organofosforados (Bisset, 2002). Sería de importancia continuar con el estudio de estas enzimas sistema en la población de *P. tritici-repentis* debido al polimorfismo hallado para este sistema.

El sistema de fosfatasas también presentó polimorfismo intraespecífico para *P. tritici-repentis*, aunque en menor medida que el de estearasas. Si bien no se conoce exactamente una función específica, estas enzimas están asociadas a mecanismos de defensa, autólisis y participan en la transformación, maduración y germinación de semillas (Vázquez et al., 2000). La presencia de fósforo orgánico en la rizósfera que no puede ser utilizado por las plantas (Curl y Truelove, 1986), enfatiza el papel de la flora microbiana en la producción de diferentes isoenzimas de las fosfatasas, involucradas en la mineralización del fósforo. Dichas enzimas parecen estar controladas poligenéticamente (Kropp, 1990). Beever y Burns (1980) sugirieron la existencia de tres tipos de fosfatasas (ácida, alcalina y de alta especificidad por el sustrato), en una gran variedad de hongos. Como la fase saprofítica de *P. tritici-repentis* se desarrolla sobre el rastrojo del cultivo de trigo, podría estar relacionado con la actividad hallada para este tipo de enzimas.

La baja frecuencia de aislamientos que revelaron actividad para el sistema de peroxidasas podría deberse a que este es un sistema que se presenta mayoritariamente en plantas (Sanchez et al., 1993). Las peroxidasas cumplen un rol importante en el establecimiento de respuestas por parte del hospedante frente a un patógeno. Se ha reportado que muchos hongos fitopatógenos producen moléculas

(llamadas elicitores) que interactúan con receptores de las plantas, activando en ellas respuestas de defensa (locales y sistémicas) así como también la reacción de hipersensibilidad (RH) (Zappacosta, 2006).

DISCUSION GENERAL

A modo de integrar los resultados obtenidos a partir de las diferentes caracterizaciones, se intentó establecer la existencia de algún tipo de relación entre los diferentes caracteres tenidos en cuenta (Anexo Tabla 25).

No se observaron asociaciones entre los diferentes caracteres, ni un patrón determinado en cuanto a la morfología, la virulencia y el tipo de isoenzimas analizados en los aislamientos de *P. tritici-repentis* considerados en este estudio.

Se observó que aislamientos que presentaron interacciones significativas con los cultivares en las dos pruebas de patogenicidad realizadas, se ubicaron en diferentes grupos tanto en el análisis para los caracteres morfofisiológicos como para los patrones isoenzimáticos. Del total analizado se puede decir que en la mayoría, la longitud de los conidios fue $\geq 149 \mu\text{m}$, siempre con una producción de conidios de escasa a moderada y representando 35 genotipos de acuerdo a los patrones isoenzimáticos.

En lo que respecta a aquellos aislamientos que presentaron mayores valores de severidad (H0011 en PI y 0001, V022 y 00017 en PII) lo único que comparten es el patrón de crecimiento de tipo IV para el tratamiento III y la nulidad de alelos para los sistemas de fosfatasas y estearasas.

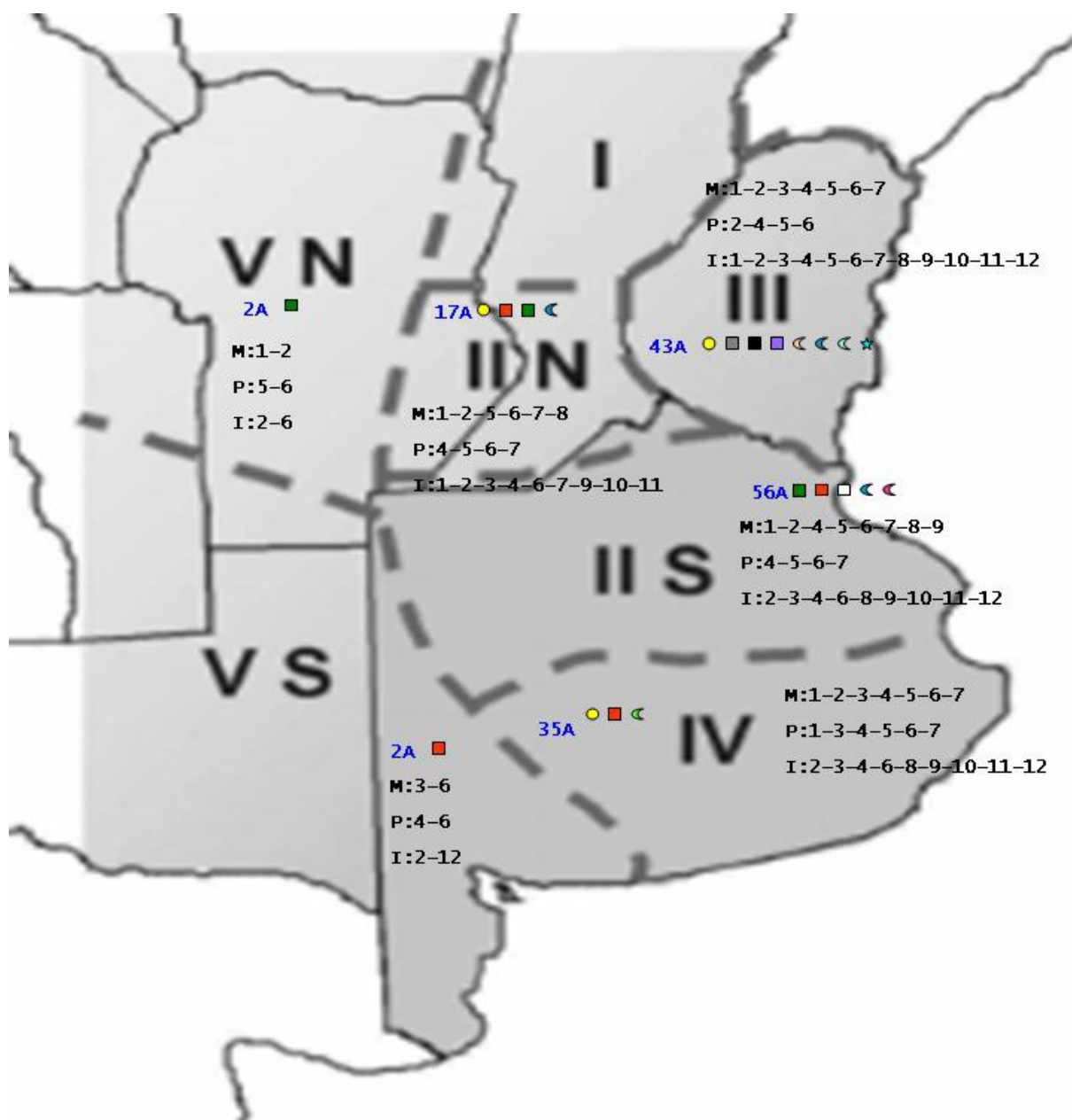
De acuerdo a la Tabla 25 del Anexo se observó que hay aislamientos que siempre se mantuvieron juntos en los diferentes grupos formados por los distintos análisis. Se observó en la mayoría de ellos que no tienen un origen común, sino que se comportan de manera semejante a pesar de provenir de diferentes condiciones en los que se desarrollan los patosistemas (Tabla 26).

Tabla 26. Grupos de aislamientos que se mantuvieron siempre juntos bajo los distintos análisis

G0323-G0327 (comparten zona III)
N022-G037-G0329-TA021
G0316-T001
O0015-P021
T012-G0332
A021-N021
BJ0011-G0311
V024-H021
T009-H015
B022-B025-B026-H0120
P023-P032-H0113-TA024-BJ001-BJ0012-H0012
H006-A029 (comparten zona II Sur)
25M033-H008-B023-C041 (comparten zona II Sur)
H0110-H0019-AZ022-H001-H013-C042
V0214-A0210-H0119
T008-H007
OL022-O0020-O0019-P022-G0328-AZ024
G0336-9J032
25M036-G036-V0213
H012-V025
H0011-H0014-CS001
CH004-H004-H016
P028-G0319-G0324-G0331
TA022-AZ021 (comparten zona IV)
CH008-G032
P026-S032 (comparten zona II Norte)
CH009-G0315-G0330-O0018
9J031-B033 (comparten zona II Sur)
CK034-S031
ARR035-25M035 (comparten cultivar de origen Buck Mataco)
AD031-H003

No existieron relaciones entre los grupos observados a partir de los diferentes parámetros evaluados y las subregiones ecológicas trigueras de donde se obtuvieron los aislamientos (Figura 46).

Figura 46. Mapa de las subregiones ecológicas trigueras y su relación con los diferentes grupos para cada parámetro evaluado.



Referencias: ● Baguette 10; ■ K. Don Enrique; ■ K. Escorpion; □ K. Zorzal; □ K. Escudo; ■ K. Churrinche; ■ K. Chajá; ◀ B. Biguá; ◀ B. Guapo; ◀ B. Brasil; ◀ B. Mataco; ◀ B. Sureño; ★ INTA Tijereta.

M: Grupos según caracteres culturales

P: Grupos según % de severidad producido

I: Grupos según patrón isoenzimático

Uno de los aspectos más dinámicos de la biología, es que las características de los individuos de una especie no son fijas en su morfología y/o fisiología, sino que varían de un individuo a otro.

La diversidad biológica se puede definir como la variedad y variabilidad de los seres vivos y de los complejos ecológicos que ellos integran. La misma abarca los distintos ecosistemas, especies, genes y su abundancia relativa (Crisci et al., 1993)

Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que la población argentina de *P. tritici-repentis* proveniente de cultivares de trigo es heterogénea en su composición.

Se pudo comprobar que no existe asociación entre caracteres morfofisiológicos, de patogenicidad y genéticos (a través de isoenzimas), ya que los agrupamientos varían de acuerdo a los parámetros tenidos en cuenta.

Esta variabilidad también fue observada en una prueba piloto del uso de marcadores moleculares del tipo ISSR para detectar polimorfismos en 37 aislamientos de *P. tritici-repentis* obtenidos de 21 localidades de la región triguera del país (Moreno et al., 2005).

Es esperable que todos los individuos que resulten de un proceso sexual difieran entre sí y de sus progenitores en numerosas características, aún cuando conserven la mayoría de las similitudes con ellos y pertenezcan a la misma especie. Este es el caso de los hongos que resultan de esporas sexuales como oosporas, ascosporas y basidiosporas (Agrios, 2004). En el caso de *P. tritici-repentis*, se conoce en el país la presencia de la fase sexual que se desarrolla a partir de los protopseudotecios y sobre el rastrojo del cultivo en forma abundante, especialmente bajo monocultivo y siembra directa. En estas condiciones se ha determinado una densidad de más de 30000 protopseudotecios/m² de rastrojo (Adde y Pfender 1989).

A su vez es un hongo que también se reproduce asexualmente, en su estado como *Drechslera tritici-repentis*. Cuando los individuos se

reproducen asexualmente, la frecuencia y el grado de variabilidad entre la progenie disminuyen ampliamente, pero aún así ciertos individuos de la descendencia mostrarán diferentes características (Agrios, 2004).

Tanto en plantas hospedantes como en patógenos la variación en la progenie es introducida primariamente por segregación y recombinación de genes durante la división meiótica del cigoto. En muchos hongos, algunos procesos parasexuales conducen a la variación. En lo que se refiere a este tipo de reproducción, se observó presencia de anastomosis de hifas, pero no se pudo comprobar la existencia de este proceso, ni se lograron aplicar las técnicas para reconocimiento de grupos de compatibilidad vegetativa

La coexistencia entre las plantas hospedantes y sus patógenos en la naturaleza indica que ambos han evolucionado juntos. Los cambios que ocurren en la virulencia de los patógenos deben estar en constante equilibrio por los cambios que ocurran en la resistencia del hospedante, y viceversa, de manera que se establezca un equilibrio dinámico de resistencia y virulencia y, que sobreviva tanto el patógeno como el hospedante (Agrios, 2004).

El grado de variabilidad en poblaciones naturales puede ser amplio, tanto dentro de la población como entre poblaciones. En condiciones naturales la presión de selección recíproca entre el hospedante y el patógeno, así como la acción del medio ambiente, son mecanismos considerados responsables de la variabilidad encontrada en un patosistema (Thompson y Burdon, 1992). Así, la variabilidad genética es una condición presente en patosistemas naturales que se ha preservado, e incrementado, en los agroecosistemas. La ampliación de las fronteras agrícolas, la introducción de cultivos a nuevas regiones, el uso desmedido de plaguicidas, etc. son factores que aumentan la fuerza de selección ejercida sobre las poblaciones de patógenos presentes en esos sistemas disturbados por el hombre. Todos estos factores favorecen la expresión de nuevos genes de

virulencia y polimorfismos genéticos en la estructura de la población de patógenos.

Bajo estas condiciones, los patógenos están expuestos a varias fuentes de variabilidad que modifican las estructuras de las poblaciones (Araya, 2003). Determinar la diversidad patogénica de organismos tan variables como el causante de la mancha amarilla de la hoja del trigo, así como la evaluación del germoplasma a utilizar, debe ser permanente en los programas de mejoramiento a la enfermedad. Como ya se mencionó, existen antecedentes que concuerdan con los resultados obtenidos en este trabajo, donde se demuestra la gran variabilidad existente para este patógeno (Ali y Francis, 2002; Effertz et al., 2001; Friesen et al., 2005; Mehta, 2000; Mehta et al., 2004; Santos et al., 1996).

En cada ambiente son las poblaciones del patógeno, nativas o emergentes, las que poseen diferentes mecanismos de patogenicidad -genes- mientras que sus respectivos hospedantes ofrecerán una diversidad similar en cuanto a genes de resistencia. Por eso es primordial en este patosistema conocer la existencia de razas presentes para seleccionar adecuadamente los materiales resistentes a esas variantes (Araya, 2003).

Conclusiones

- Se obtuvieron 155 nuevos aislamientos de *P. tritici-repentis* (Ptr) provenientes de 13 cultivares de trigo y 23 localidades, representando las subregiones ecológicas trigueras II Norte, II Sur, III, IV, V Norte y V Sur de la Argentina.
- De acuerdo a las características morfoculturales se determinaron 44 morfotipos de Ptr, agrupados en nueve grupos al 50% de similitud, según el coeficiente de Jaccard mediante UPGMA.
- Se determinaron diferencias de virulencia entre los aislamientos de Ptr en base al tipo de reacción y la severidad producida sobre un grupo de cultivares nacionales y extranjeros de trigo, utilizados como diferenciales de comportamiento.
- Se hallaron interacciones significativas entre los aislamientos de Ptr y los cultivares de trigo, indicativas de especialización fisiológica del patógeno.
- Todos los aislamientos fueron patógenos excepto CP021, AZ023 y 00014 que no provocaron enfermedad sobre ninguno de los cultivares inoculados.
- Aquellos aislamientos que produjeron una mayor severidad (0001, V022 y H0011) no tienen relación entre ellos de procedencia ni de grupo morfocultural y/o patrón isoenzimático.

- Algunos aislamientos (O001 y O0014) procedentes del mismo cultivar (Buck Sureño) y subregión ecológica triguera (IV) presentaron diferencias significativas de patogenicidad: el primero de ellos fue el más virulento y el segundo no provocó enfermedad.
- Debido a que el grupo de diferenciales de comportamiento nacionales y extranjeros permitió diferenciar los aislamientos por el tipo de reacción y no el grupo conformado por cultivares nacionales, para este tipo de estudio debe incorporarse germoplasma extranjero.
- Los cultivares de trigo Max y Klein Chajá resultaron ser los más susceptibles a la mancha amarilla del trigo en el año 2003 y 2004, respectivamente.
- Se observaron polimorfismos a nivel genético a través del uso de marcadores bioquímicos (isoenzimas), determinándose 12 grupos de aislamientos a una distancia genética del 50%.
- No se encontró correlación entre los parámetros evaluados y el origen geográfico/procedencia de los aislamientos del patógeno analizado.
- Este trabajo aporta información relevante para nuestro país que puede contribuir al diseño de estrategias aplicadas al mejoramiento del trigo frente a esta enfermedad.

ANEXO

Tabla 6. Características fenotípicas de los aislamientos de *P. tritici repentis* bajo los diferentes tratamientos

TRATAMIENTO I							TRATAMIENTO II						TRATAMIENTO III						TRATAMIENTO IV					
AISLAMIENTO	COLOR	SUP	BORDE	FORMA	MORF	DMA	COLOR	SUP	BORDE	FORMA	MORF	DMA	COLOR	SUP	BORDE	FORMA	MORF	DMA	COLOR	SUP	BORDE	FORMA	MORF	DMA
CP021	OLV	R	F	FL	D	E	OLV	R	F	F	PL	E	LG	AC	E	C	PL	M	B	L	F	F	PL	E
OL022	OLV	L	F	FL	D	M	OLV	L	F	F	D	M	LG	AC	F	C	PL	M	B	L	F	F	PL	E
TA022	OLV	L	E	FL	D	M	OLV	L	E	F	D	M	LG	AC	F	C	PL	M	LG	L	F	F	PL	E
AZ021	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	P	M	LG	R	F	F	P	M
AZ023	OLV	L	F	FL	D	E	OLV	L	F	F	D	M	LG	R	F	C	PL	A	LG	R	F	F	P	M
AZ024	OLV	L	F	FL	D	M	OLV	L	F	F	D	M	LG	R	F	C	D	A	RB	R	F	F	D	A
o001	OLV	L	E	C	P	M	OLVBF	L	E	C	D	M	LG	AC	F	C	PL	E	B	AC	F	C	D	A
o0020	OLVB	L	E	C	D	M	OLVB	L	F	C	D	M	B	AC	F	C	PL	E	B	L	F	C	D	A
o0012	OLVB	L	E	C	D	A	OLVB	L	F	C	D	M	B	AC	F	C	PL	E	B	L	F	C	D	A
o0014	OLVB	L	E	C	D	A	OLVB	L	F	C	D	M	B	AC	F	C	PL	E	B	L	F	C	D	A
o0019	OLVB	L	E	C	D	A	OLVB	L	F	C	D	M	B	AC	F	C	PL	E	B	L	F	C	D	A
o0017	OLVB	L	E	C	D	M	OLVB	L	F	C	D	M	B	AC	F	C	PL	E	B	L	F	C	D	A
o0015	OLVB	L	E	C	D	A	OLVB	L	F	C	D	M	B	AC	F	C	PL	E	B	L	F	C	D	A
P021	OLV	R	F	FL	D	A	OLVB	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	PL	M	LG	R	F	F	D	A
P022	OLV	L	F	FL	P	A	OLVB	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	PL	M	LG	R	F	F	P	M
P023	OLV	R	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	PL	E	LG	R	F	F	D	A
P026	OLV	R	F	FL	P	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	PL	M	LG	R	F	F	D	A
P027	OLV	L	F	FL	P	A	OLV	L	F	F	D	A	B	AC	E	C	PL	M	LG	L	F	F	D	A
P028	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	R	F	C	P	M	S	L	F	F	PL	M
P031	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	R	F	C	D	M	B	R	F	F	P	M
P032	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	R	F	C	PL	M	B	R	F	F	P	M
P0313	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	M	LG	R	F	C	PL	M	B	R	F	F	D	A
CK032	OLV	L	F	FL	D	M	OLV	L	F	F	D	M	LG	AC	F	C	PL	E	B	L	F	C	D	A
CK033	OLV	L	F	FL	D	M	OLV	L	F	F	D	M	LG	AC	F	C	PL	E	B	L	F	C	D	A
CK034	OLV	L	F	FL	D	M	OLV	L	F	F	D	M	LG	AC	F	C	PL	E	B	L	F	C	D	A
S031	OLV	L	F	FL	D	M	OLV	L	F	F	D	M	LG	AC	F	C	PL	M	B	L	F	C	D	A
S032	OLV	L	F	FL	D	M	OLV	L	F	F	D	M	LG	AC	F	C	PL	M	B	L	F	C	D	A
CHI0313	OLV	L	F	FL	D	M	OLV	L	F	F	D	M	LG	AC	F	C	PL	A	B	L	F	C	D	A
CK035	OLV	L	F	FL	D	M	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	PL	M	S	R	F	F	P	M
MJ032	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	P	M	B	R	F	F	D	A

AD031	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	M	LG	AC	F	C	D	M	B	R	F	F	D	A
9J031	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	M	LG	AC	F	C	D	M	B	L	F	F	D	A
9J032	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	M	LG	AC	F	C	PL	M	B	L	F	F	PL	M
ARR031	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	M	LG	AC	F	C	PL	M	B	L	F	C	D	A
ARR034	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	M	LG	AC	F	C	PL	M	B	L	F	C	D	A
ARR035	OLV	L	F	FL	D	M	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	D	M	B	R	F	C	D	A
25M031	OLV	L	F	FL	D	M	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	D	E	B	R	F	C	D	A
25M032	OLV	L	F	FL	D	M	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	D	E	B	R	F	C	D	A
25M033	OLV	L	F	FL	D	M	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	D	E	B	R	F	C	D	A
25M034	OLV	L	F	FL	D	M	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	D	E	B	R	F	C	D	A
25M035	OLV	L	F	FL	D	M	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	D	E	B	R	F	C	D	A
25M036	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	M	B	L	F	C	P	E	B	R	F	C	D	A
25M037	OLV	L	F	FL	D	A	OLVB	L	F	F	D	M	B	L	F	C	D	E	B	R	E	F	D	A
H0124	OLVB	L	F	FL	D	A	OLVB	L	F	C	D	M	B	L	F	C	PL	E	B	R	E	F	D	A
H0100	OLV	L	F	C	D	A	OLVB	L	F	C	D	A	B	L	E	C	PL	E	B	R	E	C	D	A
H0110	OLVB	L	F	C	D	M	OLVB	L	F	C	D	A	B	L	E	C	PL	E	B	L	E	C	D	A
H0113	OLVB	L	F	C	D	M	OLVB	L	F	F	D	A	B	L	E	C	PL	E	B	L	E	C	D	A
H0114	OLVB	L	F	FL	D	M	OLVB	L	F	C	D	A	B	L	E	C	PL	E	B	L	E	C	D	A
H0115	OLV	L	F	C	D	A	OLVB	L	E	C	D	M	B	L	E	C	PL	M	B	L	F	C	D	A
H003	OLVB	L	E	C	D	M	OLVB	L	E	C	D	M	B	L	E	C	PL	E	B	L	E	C	D	A
H006	OLVB	L	F	C	D	M	OLV	L	E	C	D	M	B	L	E	C	PL	M	B	L	E	C	D	A
H008	OLV	L	F	C	D	M	OLV	L	E	C	D	M	B	L	E	C	PL	E	B	L	E	C	D	A
H0011	OLV	L	F	C	D	M	OLVB	L	E	C	D	M	B	L	E	C	PL	E	B	L	E	C	D	A
H0014	OLVB	L	F	C	D	M	OLVB	L	E	C	D	M	B	L	E	C	PL	M	B	L	E	C	D	A
H0017	OLVB	L	F	C	D	M	OLVBF	L	E	C	D	M	B	L	E	C	PL	M	B	L	E	C	D	A
H0019	OLVBF	L	F	C	D	M	OLVB	L	F	C	P	M	RB	L	E	C	D	A	GOLV	L	E	C	D	A
BJ0011	OLVB	L	F	C	P	M	OLV	L	E	C	D	M	S	L	E	C	PL	M	B	L	E	C	PL	M
CS002	GOLV	R	F	FL	D	A	OLVBF	L	F	F	D	M	S	R	E	C	PL	M	LG	R	F	F	P	A
A021	OLVBF	L	F	FL	D	E	OLV	L	F	F	D	M	S	AC	F	C	PL	M	S	L	E	C	PL	E
CH002	OLVB	AC	F	FL	D	M	GOLV	L	F	F	D	M	S	AC	F	C	PL	E	S	L	E	C	PL	E
CH004	OLVB	AC	F	FL	D	M	GOLV	L	F	F	D	M	B	AC	F	C	PL	M	S	L	E	C	PL	E
CH005	OLVB	AC	F	FL	D	M	OLV	L	F	F	D	M	S	AC	F	C	PL	M	RB	L	E	C	PL	E
CH006	OLV	AC	F	FL	D	M	OLV	L	F	F	D	M	B	AC	F	C	D	A	RB	L	E	C	PL	E
CH007	OLV	AC	F	FL	D	M	OLV	L	F	F	D	M	S	AC	F	C	PL	M	S	L	E	C	PL	E
CH008	OLV	AC	F	FL	D	M	OLVBF	L	F	C	D	M	RB	AC	F	C	PL	M	RB	L	E	C	PL	E

CH009	OLVBF	L	F	FL	D	A	OLV	L	E	C	PL	A	B	AC	F	F	PL	E	S	L	E	C	PL	E
T006	OLVB	L	F	FL	D	A	OLVBF	R	E	C	D	A	B	AC	E	C	PL	E	B	L	F	F	PL	E
T0012	GOLV	R	E	C	PL	E	OLVBF	R	E	F	D	A	B	AC	F	C	PL	E	GOLV	R	F	F	D	A
T0017	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	E	F	D	A	LG	AC	F	C	PL	E	LG	R	E	C	P	M
N021	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	E	F	PL	E	LG	R	F	C	D	A	LG	R	E	C	P	M
N022	OLV	L	E	FL	PL	E	OLV	L	E	F	D	E	LG	AC	F	C	D	A	LG	L	F	F	D	A
V021	OLV	L	E	FL	D	E	OLV	L	E	F	PL	E	B	R	E	C	D	A	LG	R	F	F	P	M
V022	OLV	L	E	FL	PL	E	OLV	L	F	F	D	A	B	AC	E	C	PL	E	LG	R	F	F	P	M
V0212	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	P	A	LG	AC	F	C	PL	M	LG	R	F	F	P	M
V0214	OLV	L	F	FL	P	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	R	E	C	D	M	LG	R	F	C	D	A
B022	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	E	C	PL	E	B	R	F	F	D	A
B023	OLV	L	F	FL	D	A	OLVBF	L	F	F	D	A	B	AC	E	C	PL	A	LG	R	E	C	D	A
B025	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	PL	E	B	AC	F	C	PL	E	LG	R	E	C	P	M
B026	OLV	L	F	FL	PL	E	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	PL	E	LG	L	F	F	PL	E
B029	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	P	M	LG	L	F	F	PL	A
G031	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	P	M	LG	L	F	F	PL	A
G032	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	P	M	LG	L	F	F	PL	E
G035	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	D	M	LG	L	F	F	D	A
G036	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	P	M	LG	L	F	F	P	A
G037	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	P	M	LG	L	F	F	P	E
G038	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	P	M	LG	L	F	F	D	M
G039	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	P	M	LG	L	F	F	P	E
G0310	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	D	M	LG	L	F	F	P	A
G0311	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	P	M	LG	L	F	F	P	E
G0312	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	P	M	LG	L	F	F	D	A
G0313	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	P	M	LG	L	F	F	D	A
G0315	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	P	M	LG	L	F	F	D	M
G0316	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	P	M	LG	L	F	F	P	M
G0317	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	P	M	LG	L	F	F	PL	M
G318	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	P	M	LG	L	F	F	D	M
G0319	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	D	M	LG	L	F	F	D	E
G0321	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	P	M	LG	L	F	F	PL	E
G0322	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	P	M	LG	L	F	F	D	E
G0323	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	P	M	LG	L	F	F	D	E
G0324	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	P	M	LG	L	F	F	PL	A

G0325	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	P	M	LG	L	F	F	PL	M
G0326	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	D	M	LG	L	F	F	PL	M
G0327	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	P	M	LG	L	F	F	D	A
G0328	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	P	M	LG	L	F	F	PL	M
G0329	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	P	M	LG	L	F	F	P	M
G0330	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	P	M	LG	L	F	F	D	M
G0331	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	P	M	LG	L	F	F	P	A
G0332	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	P	M	LG	L	F	F	P	A
G0334	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	AC	F	C	P	M	LG	L	F	F	P	A
G0336	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	E	F	D	A	LG	AC	F	C	PL	M	RB	L	F	F	D	M
TA024	OLV	L	E	FL	D	E	OLVB	L	E	C	D	M	B	AC	F	C	PL	E	B	AC	F	C	D	E
O008	OLVB	L	E	C	D	A	OLV	L	E	C	D	E	LG	AC	F	C	PL	E	B	L	F	F	PL	E
V025	OLV	L	E	C	D	E	OLV	L	E	C	D	E	LG	AC	F	C	PL	E	RB	R	F	F	D	A
V024	OLV	L	E	C	D	E	OLVB	L	F	C	P	M	RB	L	E	C	D	A	GOLV	L	E	C	D	A
TA021	OLV	L	E	FL	D	E	OLV	L	E	C	D	E	LG	AC	F	C	PL	M	B	L	F	F	PL	E
CS001	OLVB	AC	F	FL	D	A	OLVB	L	F	C	D	A	S	AC	E	C	D	E	B	L	E	C	PL	M
A029	OLV	L	F	FL	D	E	OLV	L	F	C	D	E	LG	AC	F	C	PL	M	LG	L	F	F	PL	E
B021	OLV	R	F	FL	D	A	OLV	R	F	F	D	A	S	R	E	C	PL	M	B	R	E	C	D	A
V0213	OLV	L	E	FL	D	A	OLV	L	E	F	D	A	LG	L	E	C	PL	E	LG	L	F	F	PL	E
A0210	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	A	LG	R	E	C	D	A	LG	R	F	F	P	A
AZ022	OLVB	L	F	FL	D	M	OLV	L	F	F	P	M	LG	R	F	C	D	A	LG	L	F	F	D	A
H021	OLV	L	F	FL	D	E	OLV	L	F	F	P	E	B	R	F	C	D	A	GOLV	R	F	F	P	M
T009	OLVB	L	F	FL	D	M	OLVB	L	E	C	PL	E	B	AC	F	F	PL	E	S	L	E	C	P	M
T008	OLVB	L	F	FL	D	A	OLVB	L	E	C	PL	E	RB	AC	F	F	PL	E	S	L	E	C	P	M
T001	OLVB	L	F	FL	D	A	OLVB	L	E	C	PL	E	B	AC	F	F	PL	E	S	L	E	C	P	M
H004	OLVB	L	F	C	D	M	OLVB	L	E	C	D	M	B	L	E	C	PL	M	B	L	E	C	D	A
H0018	OLV	L	F	C	D	M	OLV	L	F	C	D	M	B	L	E	C	PL	M	B	L	E	C	D	A
O0011	OLVB	L	E	C	D	A	OLVB	L	E	C	D	M	B	AC	F	C	PL	E	B	L	F	C	D	A
BJ0012	GOLV	L	F	C	P	M	GOLV	L	F	C	P	M	GOLV	L	E	C	D	A	GOLV	L	E	C	D	A
H007	OLVB	L	F	C	D	M	OLVB	L	F	C	D	M	B	L	E	C	PL	M	B	L	E	C	D	A
H0012	OLVB	L	F	C	D	M	OLVB	L	F	C	D	M	B	L	E	C	PL	E	B	L	E	C	D	A
H001	OLVB	L	E	C	D	M	OLVB	L	E	C	D	M	B	L	E	C	PL	M	B	L	E	C	D	A
G034	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	M	LG	AC	F	C	PL	M	LG	L	E	C	D	A
G0300	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	M	LG	AC	F	C	D	M	LG	L	F	F	D	A
G0333	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	M	LG	AC	F	C	D	M	LG	L	E	C	D	A

G0320	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	M	LG	AC	F	C	D	M	LG	L	E	C	D	A
MJ031	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	M	LG	AC	F	C	PL	E	B	L	E	C	D	A
B033	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	M	B	R	F	C	P	M	B	L	E	C	D	A
B0210	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	M	B	R	F	C	P	A	B	L	E	C	D	A
B027	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	M	LG	AC	E	C	D	A	B	L	E	C	D	A
B024	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	M	LG	AC	F	C	PL	E	LG	L	F	F	D	A
H0119	OLVB	L	F	C	D	A	OLV	L	F	F	D	M	B	L	F	C	PL	E	B	L	E	C	D	A
H0120	OLVB	L	F	C	D	M	OLV	L	F	F	D	M	B	L	E	C	PL	E	B	L	E	C	D	A
B028	OLV	L	F	FL	D	A	OLVB	L	F	F	D	M	LG	AC	F	C	PL	E	LG	R	F	F	P	A
H016	OLVB	L	F	C	D	M	OLVB	L	F	F	D	M	B	L	E	C	PL	E	B	L	E	C	D	A
H013	OLVB	L	F	C	D	M	OLVB	L	F	C	D	M	B	AC	E	C	PL	E	B	L	E	C	D	A
H012	OLVB	L	F	C	D	M	OLVB	L	F	C	D	M	B	L	E	C	PL	E	B	L	E	C	D	A
H015	OLVB	L	F	C	D	M	OLVB	L	F	C	D	M	B	L	E	C	PL	E	B	L	E	C	D	A
H0111	OLVB	L	F	C	D	M	OLVB	L	F	C	D	M	B	L	E	C	PL	E	B	L	E	C	D	A
O0018	OLVB	L	E	C	D	A	OLVB	L	E	C	D	M	B	AC	F	C	PL	E	B	L	F	C	D	A
CH0010	OLVB	L	F	C	D	A	OLVB	L	F	F	D	M	S	AC	F	C	D	A	S	L	E	C	PL	E
C041	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	M	B	R	F	C	D	E	S	L	E	C	D	A
C042	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	M	B	R	F	C	D	E	S	L	E	C	D	A
C043	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	M	B	R	F	C	D	E	S	L	E	C	D	A
FH041	OLV	L	F	FL	D	A	OLV	L	F	F	D	M	B	R	E	C	P	E	B	L	E	C	D	A

COLOR: OLV = OLIVACEUS; OLVB = OLIVACEUS BLACK; OLVB F = OLIVACEUS BUFF; GOLV = GREENISH OLIVACEUS;

S = SALMON; B = BUFF; RB = ROSY BUFF; LG = LAVANDER GREY

SUP = SUPERFICIE: L = LISA; R 0 RUGOSA, AC = ANILLOS CONCÉNTRICOS

BORDE: E = ENTERO; F = FILAMENTOSO

FORMA: C = CIRCULAR; FL = FILAMENTOSA

MORF = MORFOLOGÍA: D = DENSA; P = PENACHO; PL = PELUSA

DMA = DESARROLLO MICELIO AEREO: E = ESCASO; M = MODERADO; A = ABUNDANTE

Tabla 8. Medias de RPC desarrollados por los aislamientos de *P. tritici-repentis*.

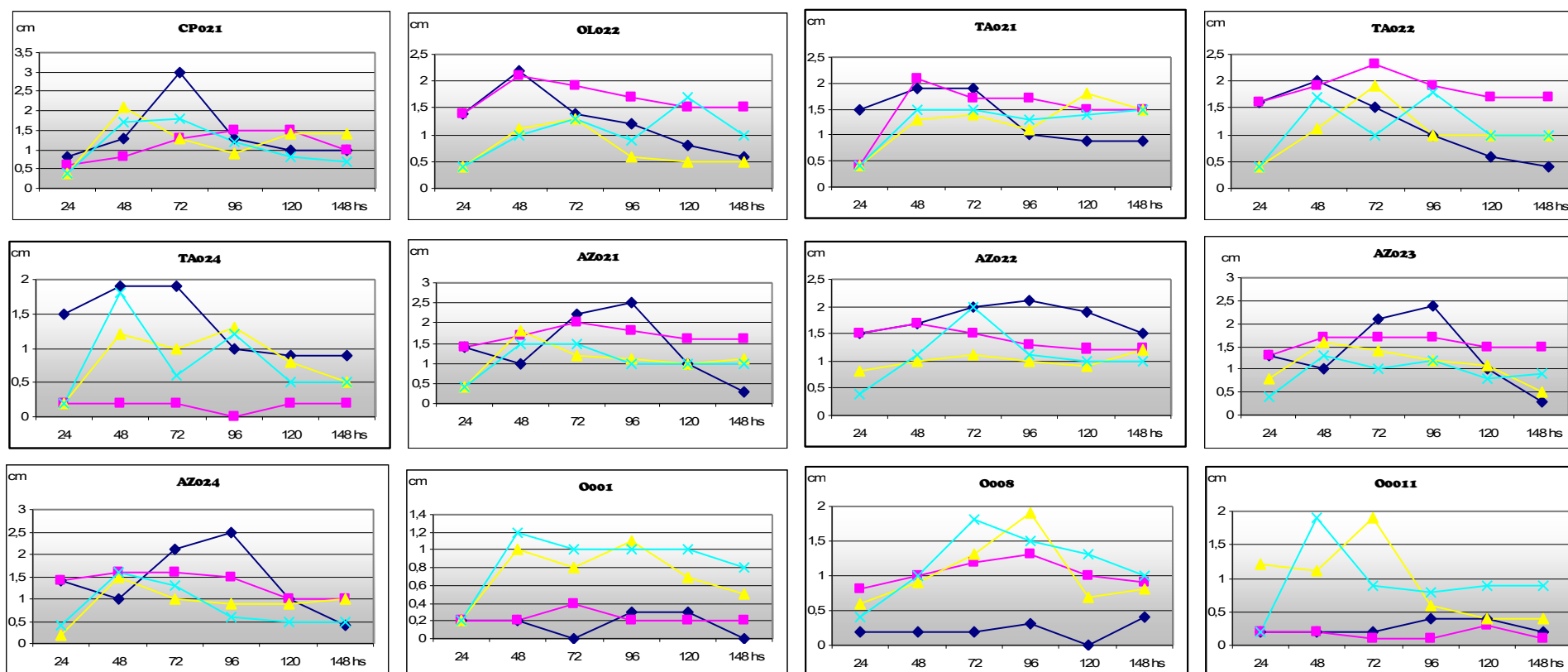
	TI	TII	TIII	TIV
CP021	1,29	1,04	1,16	1,03
OL022	1,17	1,53	0,71	0,99
TA022	1,1	1,67	1,00	1,07
AZ021	1,29	1,53	1,03	1,00
AZ023	1,24	1,43	1,03	0,89
AZ024	1,29	1,24	0,87	0,79
O001	0,23	0,29	0,70	0,83
O0020	0,31	0,34	0,91	0,86
O0012	0,37	0,26	1,00	0,84
O0014	0,26	0,23	0,89	0,83
O0019	0,29	0,24	0,93	0,87
O0017	0,39	0,29	0,77	0,84
O0015	0,3	0,33	1,03	0,80
P021	0,86	0,24	1,03	0,81
P022	0,81	0,11	0,99	0,90
P023	0,86	0,23	0,79	1,04
P026	0,81	0,23	1,09	0,99
P027	0,86	0,26	1,04	0,86
P028	0,87	0,21	0,91	0,87
P031	0,8	0,20	1,01	1,14
P032	0,81	0,21	0,97	0,86
P0313	0,97	0,23	0,97	0,84
CK032	1,13	1,23	1,00	0,96
CK033	1,09	1,23	1,09	0,93
CK034	1,06	1,26	1,06	1,06
S031	1,17	1,23	1,03	0,96
S032	1,11	1,21	1,11	1,13
CHI0313	1,2	1,43	1,20	1,03
MJ032	1,31	1,31	1,31	1,06
AD031	1,31	1,21	1,26	1,16
9J031	1,2	1,19	1,09	1,00
9J032	1,16	1,10	0,99	1,00
ARR031	1,1	1,30	1,00	1,07
ARR034	1,16	1,20	1,13	0,97
ARR035	1,14	1,41	1,10	0,93
25M031	1,17	2,84	1,19	1,30
25M032	1,19	1,53	1,01	1,20
25M033	1,3	1,31	0,94	1,16
25M034	1.245	1,14	1,13	1,03
25M035	1,21	1,26	1,07	1,03
25M036	1.145	1,29	0,96	0,81
25M037	1.165	1,29	1,04	0,94
H0124	0,92	0,31	0,96	0,91
H0100	0,415	0,30	0,66	0,93
H0110	0,225	0,30	0,73	0,71
H0113	0,275	0,30	0,91	0,61
H0114	0,28	0,36	0,87	0,54
H0115	0,315	0,33	1,03	0,64
H003	0,31	0,36	0,49	0,74
H006	0,26	0,37	0,81	0,73
H008	0,245	0,40	0,76	0,74
H0011	0,43	0,36	0,71	0,73
H0014	0,515	0,36	0,80	0,53
H0017	0,345	0,39	0,74	0,77
H0019	0,315	0,36	0,80	0,71
BJ0011	0,315	0,31	0,87	0,71
CS002	0,76	0,69	0,74	0,76
A021	1.245	1,37	1,26	0,94
CH002	1.215	0,99	0,87	0,87
CH004	1,18	1,17	0,86	1,03
CH005	1.015	1,09	0,77	0,67
CH006	0,99	1,07	0,71	0,86
CH007	1.065	1,13	0,86	0,87

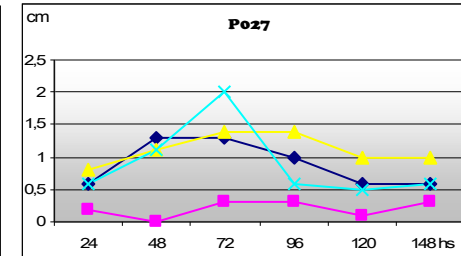
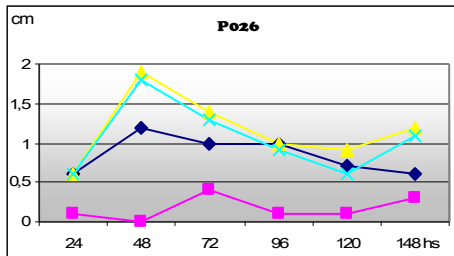
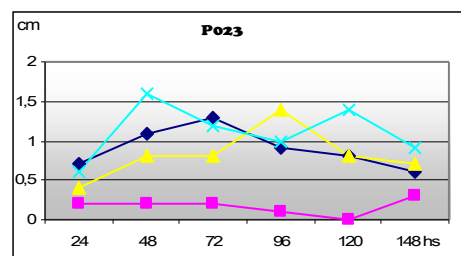
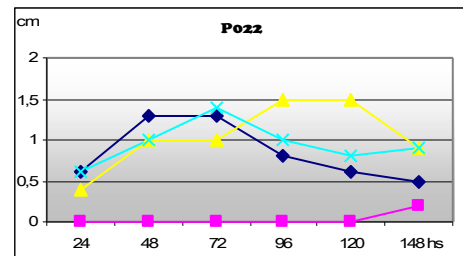
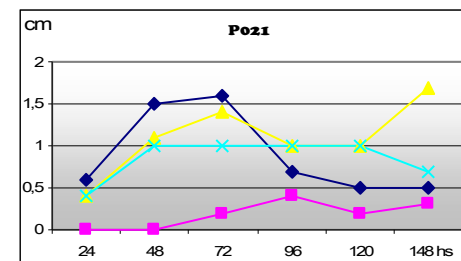
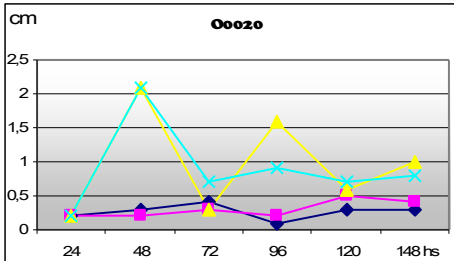
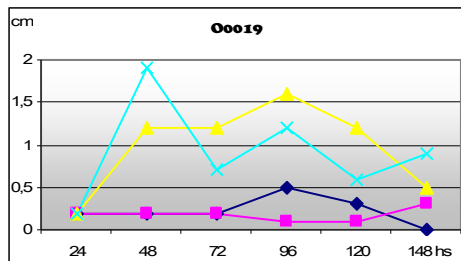
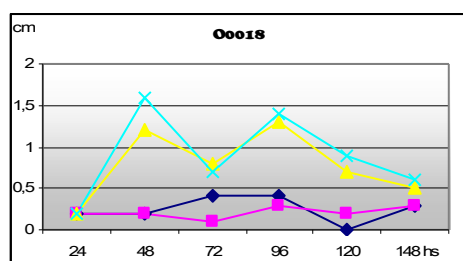
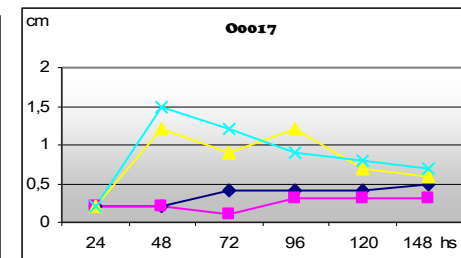
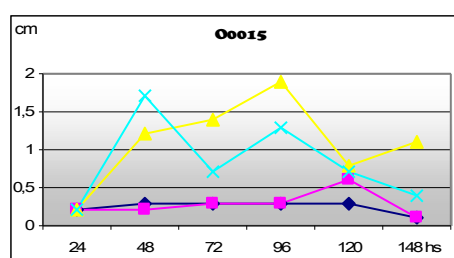
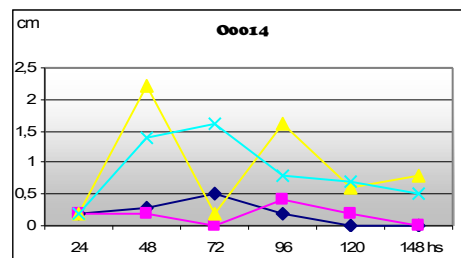
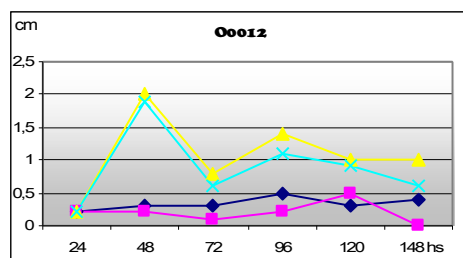
CH008	1,06	1,03	1,01	0,86
CH009	1.145	1,07	1,00	0,96
T006	0,825	0,83	1,03	0,89
T0012	0,495	0,36	1,03	0,81
T0017	0,42	0,44	1,00	0,96
N021	0,74	1,29	1,17	1,10
N022	1.125	1,24	1,13	0,87
V021	1,07	1,01	1,13	0,99
V022	0,995	0,83	1,13	0,91
V0212	0,945	0,99	1,09	1.48
V0214	0,935	0,99	0,96	1,07
B022	0,97	1,00	0,91	0,99
B023	1,02	1,04	0,91	1,06
B025	1.015	0,99	0,91	0,99
B026	1	0,99	0,87	0,99
B029	1.025	0,87	1,07	0,96
G031	1.015	0,99	1,03	0,94
G032	0,995	0,97	1,03	0,96
G035	1.045	1,09	0,99	0,96
G036	1,16	1,23	0,99	0,94
G037	1.235	1,17	1,01	0,93
G038	1,22	0,96	1,00	0,99
G039	1,22	1,20	1,16	1,11
G0310	1.325	1,33	1,16	1,14
G0311	1.505	1,47	0,99	0,93
G0312	1.505	1,33	1,04	0,99
G0313	1,39	1,30	0,97	0,91
G0315	1.285	1,16	1,00	1,04
G0316	1,28	1,27	1,09	0,91
G0317	1.285	1,07	0,99	1,04
G0318	1,15	1,09	0,91	0,91
G0319	1,08	1,07	0,97	1,01
G0321	1.085	1,09	0,99	0,97
G0322	1.185	1,17	0,96	0,96
G0323	1,24	0,91	1,04	1,11
G0324	1.175	1,00	0,99	0,96
G0325	1.235	1,34	0,93	0,96
G0326	1,25	1,20	0,97	0,97
G0327	1,15	1,26	1,16	0,99
G0328	1.265	1,29	0,97	0,96
G0329	1.255	1,13	1,01	0,93
G0330	1,07	1,09	1,00	1,00
G0331	1,15	0,94	0,94	0,97
G0332	1,19	1,01	1,04	0,84
G0334	1,11	1,04	1,04	0,90
G0336	1.175	1,20	0,96	0,79
TA024	1,19	1,17	0,94	1,06
O008	0,755	0,23	0,80	0,77
V025	0,65	0,97	0,97	1,09
V024	0,965	0,97	0,97	1,09
BJ001	1,1	0,09	0,97	1.45
TA021	1.185	1,36	1,16	1,17
CS001	1,23	0,70	0,84	0,86
A029	1.135	1,33	0,93	0,96
B021	0,955	0,94	0,93	1,01
V0213	1.155	0,90	0,90	0,96
A0210	1.475	0,96	0,99	0,86
AZ022	0,89	1,29	0,94	1,03
H021	0,32	0,34	0,59	0,93
T009	0,49	0,53	0,97	1,00
T008	0,485	0,59	0,99	0,97
T001	0,335	0,36	1,00	1,06
H004	0,255	0,29	0,66	0,61
H0018	0,305	0,43	1,04	0,64
O0011	0,385	0,23	0,89	0,89
BJ0012	0,375	0,63	0,89	0,93
H0017	0,3	0,29	0,61	0,64

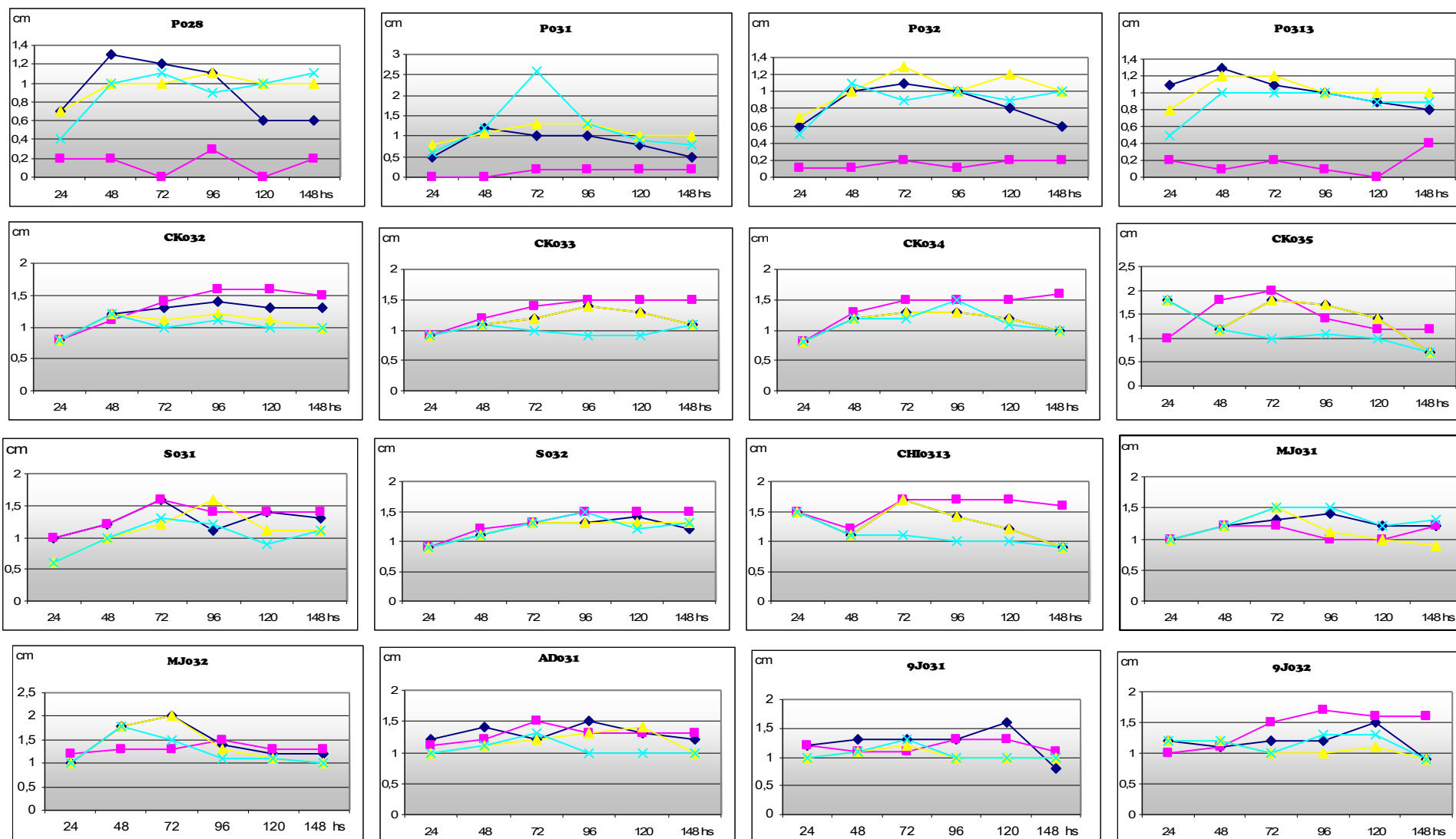
H0012	0,27	0,36	0,71	0,60
H001	0,73	0,29	0,63	0,67
G034	1.215	1,36	1,01	0,77
G0300	1.215	0,87	1,04	0,83
G0333	1,23	0,93	1,00	0,83
G0320	1,18	0,90	0,90	0,86
MJ031	1,1	1,03	1,04	1,19
B033	1.105	1,01	1,13	1,00
B0210	1,2	1,03	1,16	0,94
B027	1.245	0,94	1,16	0,87
B024	0,73	0,84	1,09	0,97
H0119	0,31	0,39	0,66	0,80
H0120	0,825	0,46	0,70	0,70
B028	0,75	0,86	0,74	0,91
H016	0,22	0,40	0,74	0,76
H013	0,255	0,31	0,61	0,63
H012	0,37	0,33	0,86	0,77
H015	0,495	0,31	0,73	0,60
H0111	0,43	0,53	0,30	0,64
O0018	0,75	0,27	0,76	0,86
CH0010	1,2	0,94	0,99	0,81
C041	0,955	0,99	0,90	0,83
C042	0,865	0,84	0,89	0,86
C043	1	0,80	0,86	0,89
FH041	0,99	0,71	0,36	0,93

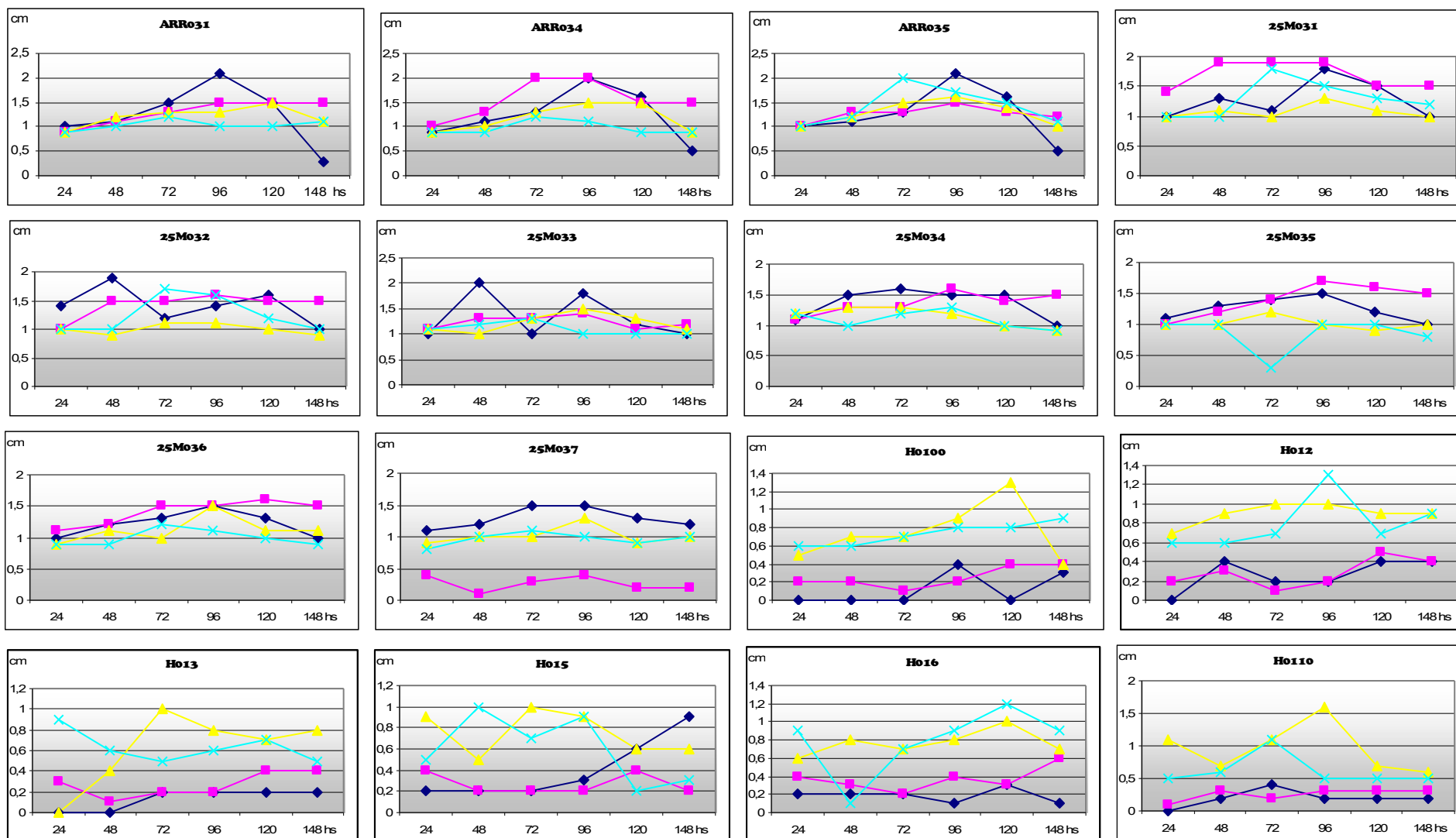
- Aislamientos que presentaron los RPC más bajos dentro del tratamiento.
- Aislamientos que presentaron los RPC más alto dentro del tratamiento.

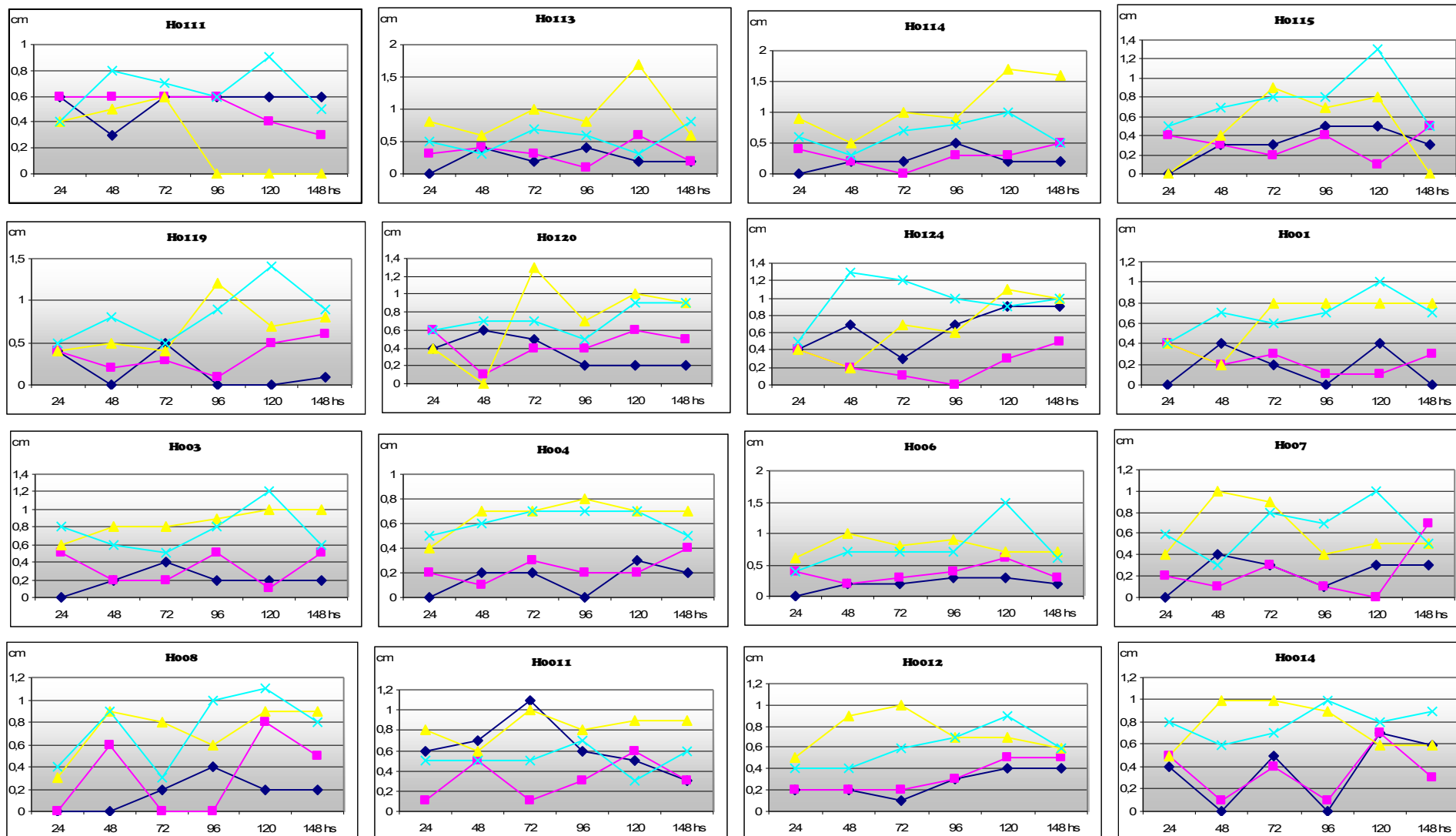
Figura 15. Diferentes patrones de crecimiento desarrollados por *P. tritici-repentis*
 Tratamiento I- Tratamiento II- Tratamiento III- Tratamiento IV

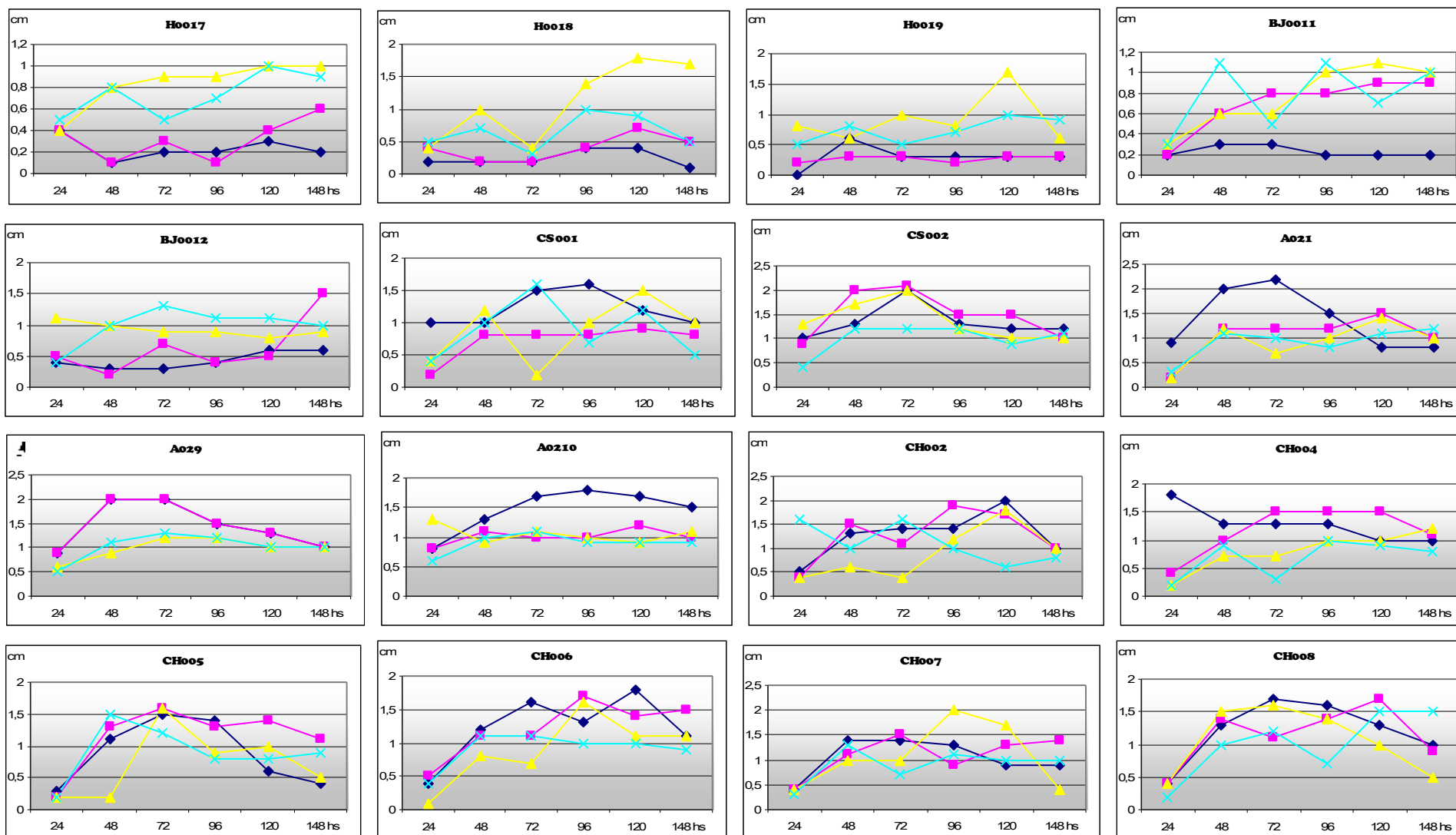


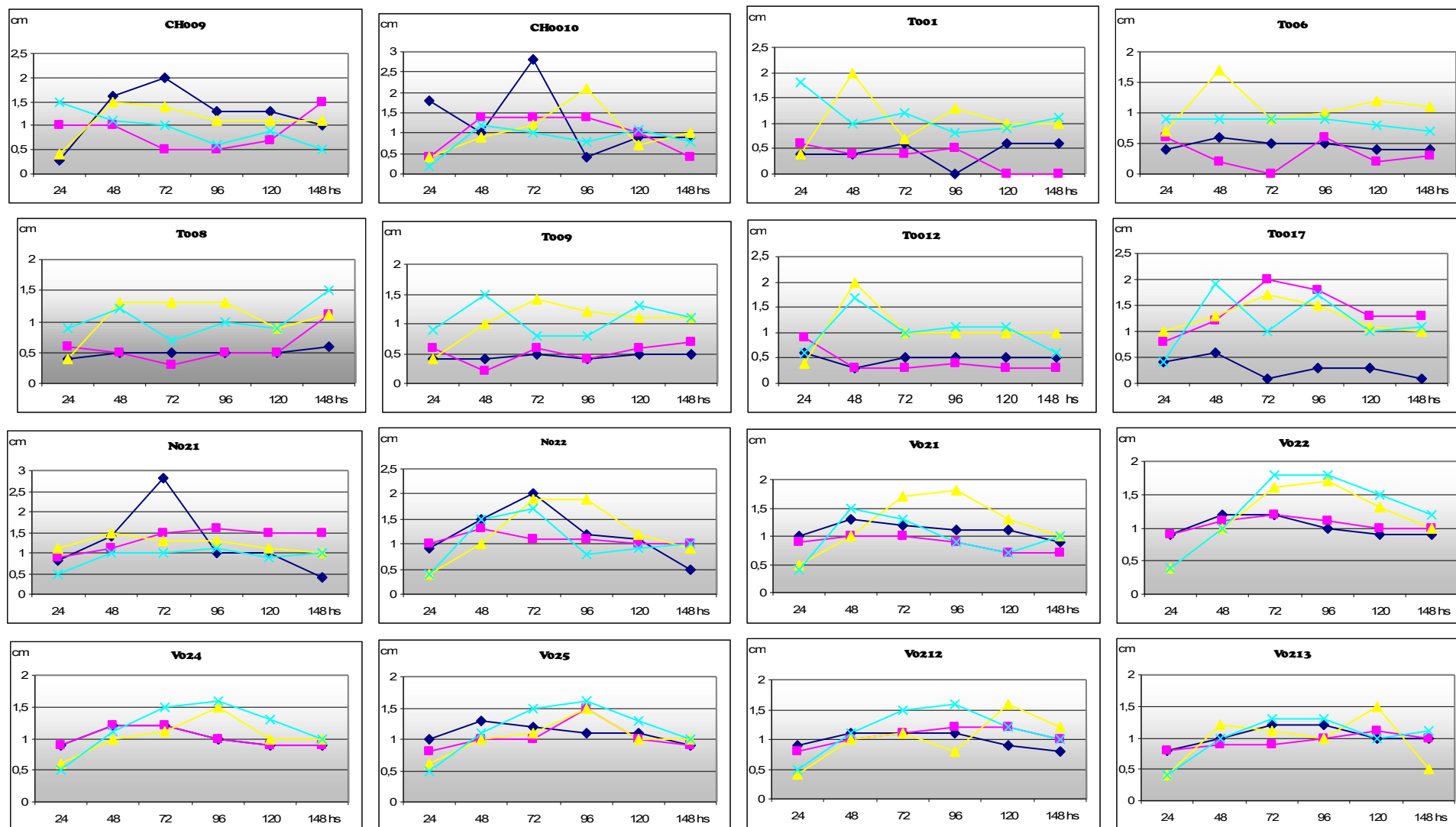


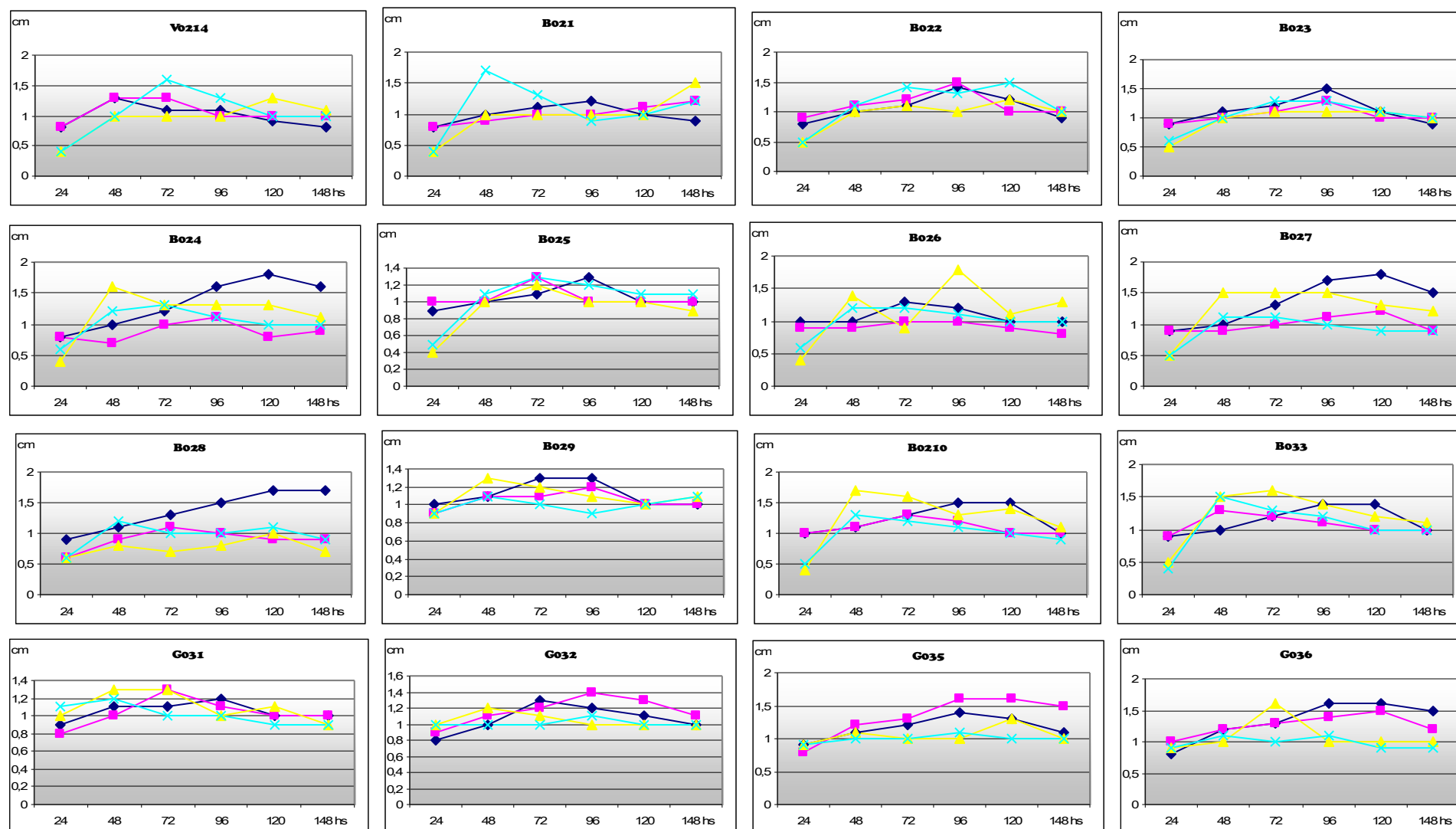


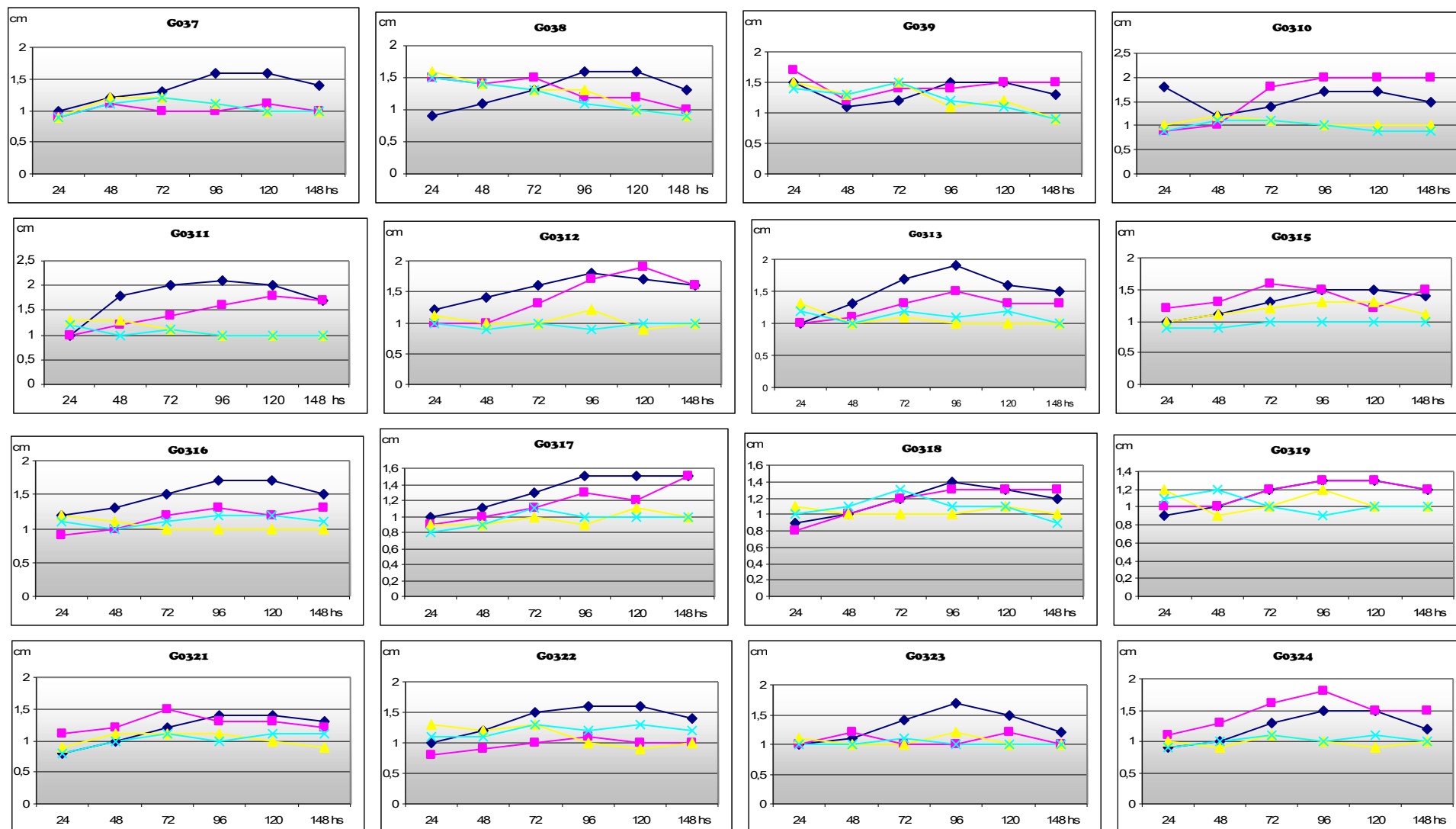


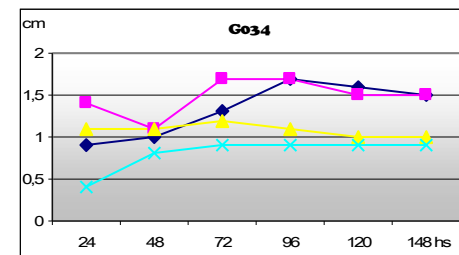
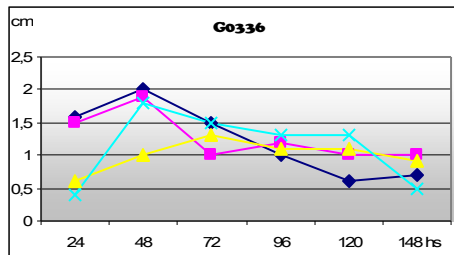
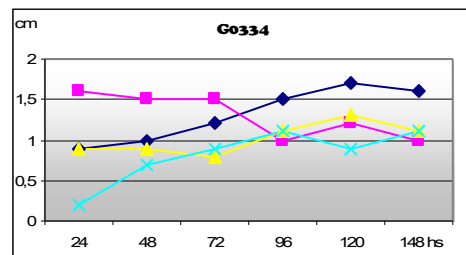
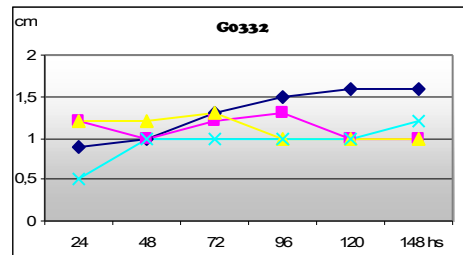
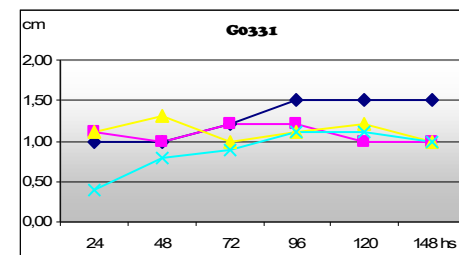
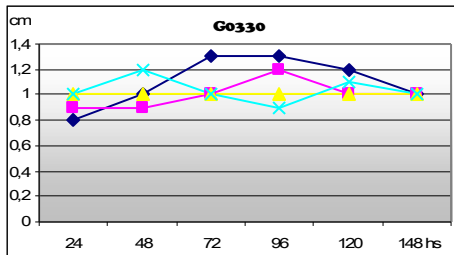
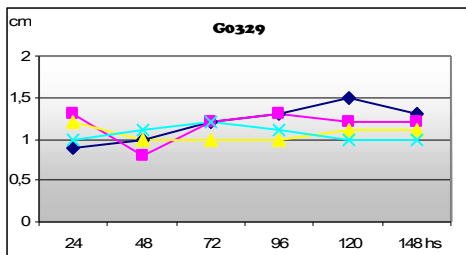
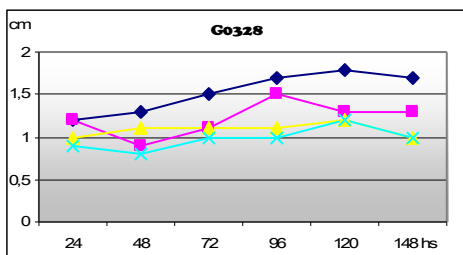
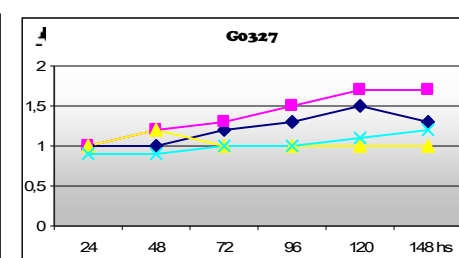
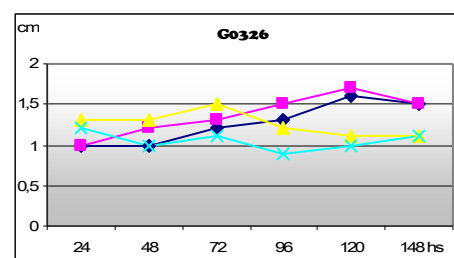
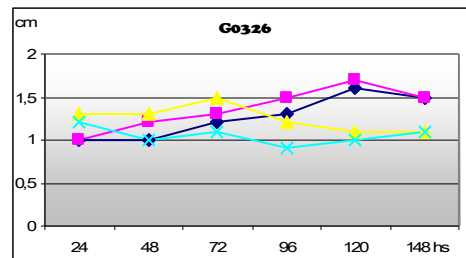
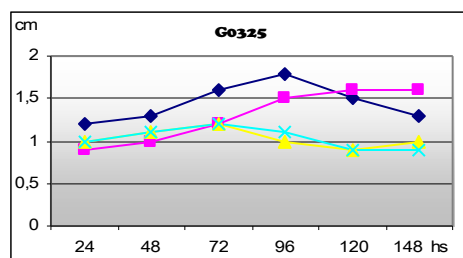












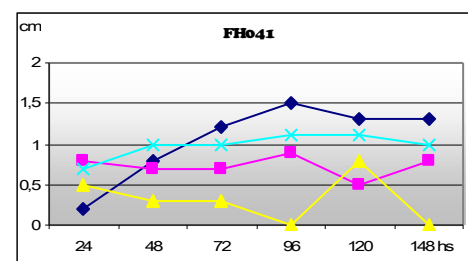
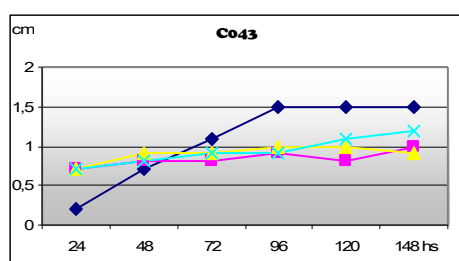
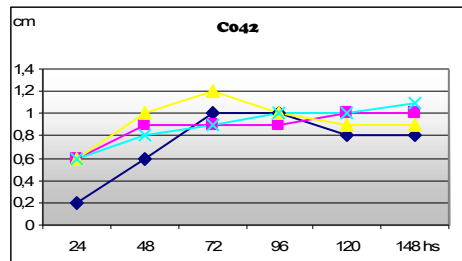
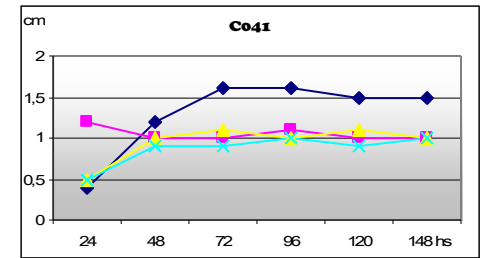
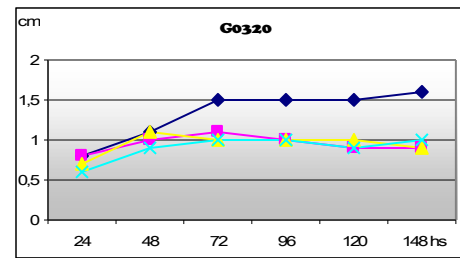
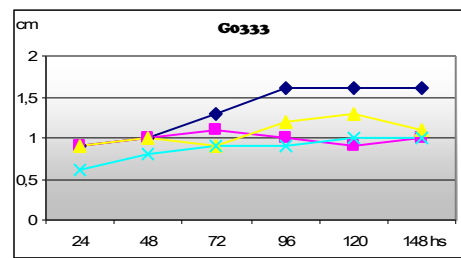
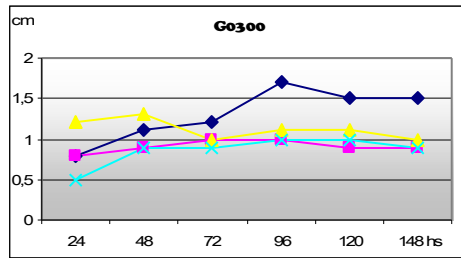


Figura 23. Diferentes grados de severidad provocados por los aislamientos de *P. tritici-repentis* sobre los cultivos inoculados.

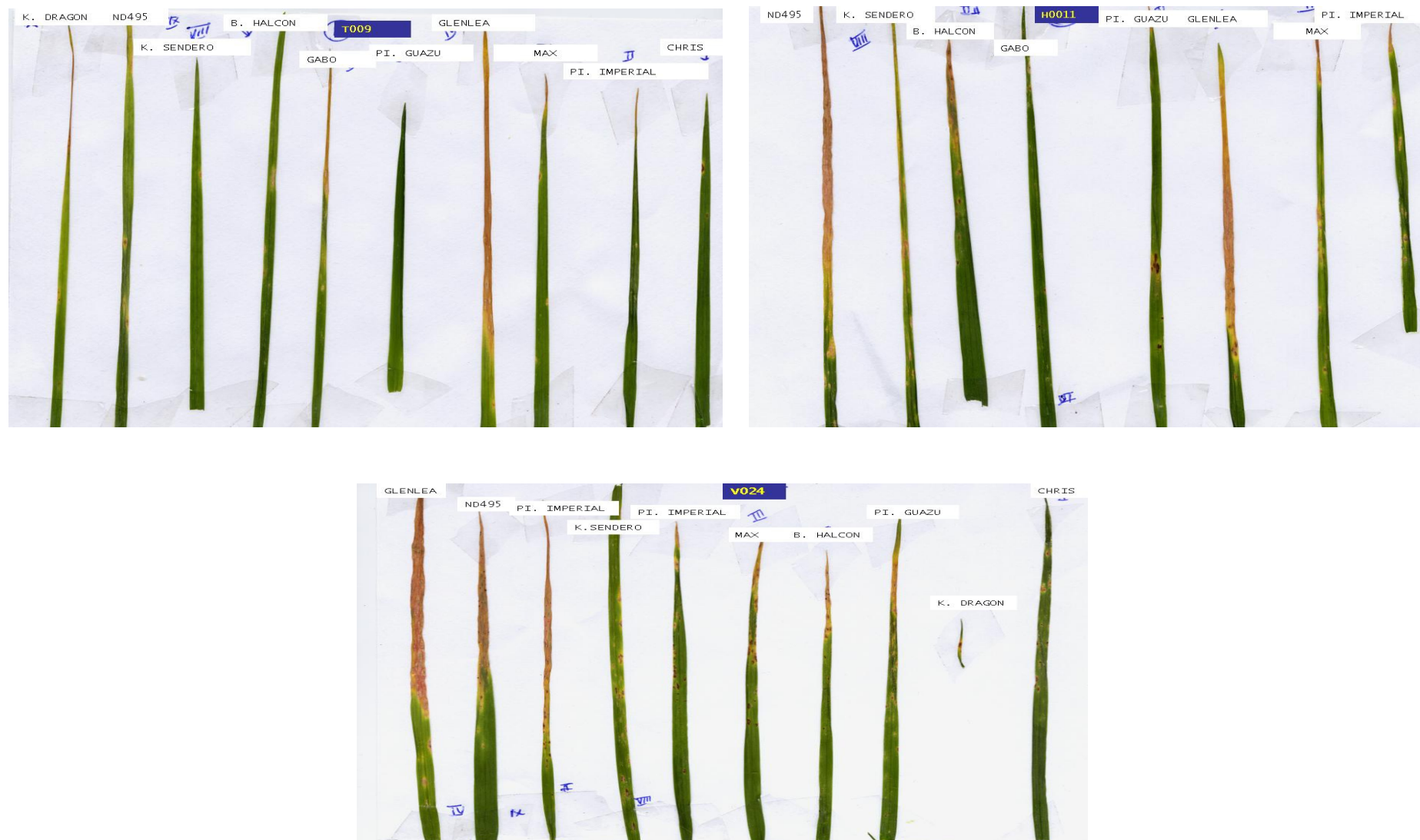


Figura 35. 2004 Síntomas provocados por los aislamientos de *P. tritici-repentis* sobre el grupo de cultivares nacionales.

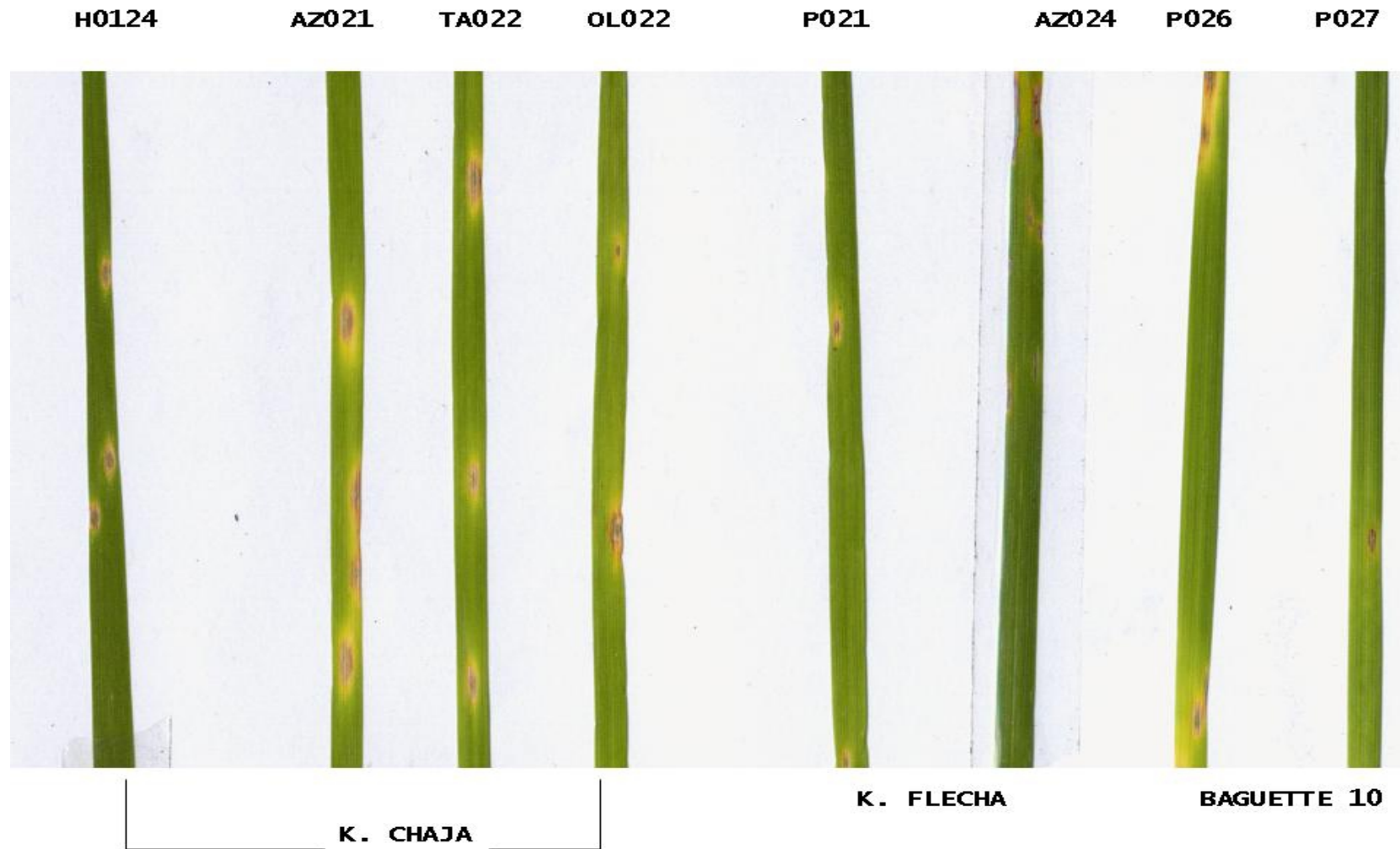


Tabla 17. Rf de los aislamientos para cada uno de los sistemas revelados

ESTEARASAS		FOSFATASAS		PEROXIDASAS	
Aislamiento	Rf	Aislamiento	Rf	Aislamiento	Rf
CP021	0.85	CP021	0.212	CP021	
OL022	0.873	OL022	0.431	OL022	
TA022	0.71		0.46	TA022	
AZ021	0.896	TA022		AZ021	
AZ023	0.706	AZ021	0.175	AZ023	0.292
AZ024			0.203	AZ024	
O001	0.678	AZ023	0.326	O001	
O0020	0.678		0.357	O0020	
O0012	0.802	AZ024		O0012	
O0014		O001		O0014	
O0019		O0020		O0019	
O0017	0.695	O0012		O0017	
O0015	0.673	O0014		O0015	
	0.832	O0019		P021	
P021	0.71	O0017		P022	
P022	0.718	O0015	0.301	P023	
P023	0.863		0.343	P026	
P026	0.863	P021	0.338	P027	
P027	0.681		0.384	P028	
	0.824	P022		P031	0.382
P028	0.785	P023		P032	
	0.906	P026	0.387	P0313	
P031	0.668	P027	0.301	CK032	
P032	0.717		0.347	CK033	
P0313	0.71	P028		CK034	
CK032	0.674	P031	0.209	S031	
CK033		P032	0.384	S032	0.352
CK034	0.869	P0313		CHI0313	
	0.956	CK032	0.466	MJ032	
S031	0.583	CK033	0.463	AD031	
	0.686	CK034	0.159	9J031	0.289
S032	0.677	S031	0.133	9J032	
	0.8	S032		ARR031	
CHI0313	0.557	CHI0313	0.422	ARR034	0.35
	0.671		0.455	ARR035	
	0.806	MJ032		25M031	
MJ032	0.774	AD031	0.418	25M032	
	0.861		0.455	25M033	
AD031	0.706	9J031		25M034	
9J031	0.884	9J032	0.184	25M035	
9J032	0.96	ARR031		25M036	
ARR031	0.699	ARR034		25M037	
ARR034	0.795	ARR035	0.2	H0124	
	0.944	25M031		H0100	
ARR035	0.909	25M032	0.228	H0110	0.354
25M031	0.931	25M033		H0113	
25M032	0.939	25M034	0.161	H0114	
25M033	0.812	25M035		H0115	
25M034	0.695	25M036		H003	0.287
	0.808	25M037	0.319	H006	
25M035	0.8	H0124	0.294	H008	0.258
25M036		H0100	0.294	H0011	
25M037	0.68	H0110	0.306	H0014	

H0124	0.68	H0113		H0017	
H0100	0.68	H0114		H0019	0.265
H0110	0,685	H0115		BJ0011	0.269
H0113	0,685	H003		CS002	0.262
H0114	0.689	H006		A021	
H0115	0.691	H008	0.314	CH002	0.293
H003		H0011		CH004	
H006	0.685	H0014		CH005	
H008	0.695	H0017	0.188	CH006	
H0011	0.876		0.225	CH007	
H0014	0.847	H0019	0.314	CH008	
H0017	0.843		0.357	CH009	
H0019	0.689	BJ0011	0.301	T006	
BJ0011	0.68		0.351	T0012	
CS002		CS002		T0017	0.289
A021		A021		N021	0.293
CH002	0.695	CH002	0.153	N022	
	0.808	CH004	0.439	V021	
CH004	0.469	CH005	0.439	V022	
CH005	0.479	CH006	0.217	V0212	
CH006		CH007	0.283	V0214	
CH007			0.32	B022	
CH008		CH008	0.301	B023	
CH009	0.869		0.345	B025	
T006	0.889	CH009	0.221	B026	
T0012		T006	0.226	B029	
T0017	0.752	T0012	0.376	G031	
	0.854	T0017	0.204	G032	
N021	0.886	N021		G035	
N022	0.865	N022	0.175	G036	
V021	0.806		0.211	G037	
V022	0.847	V021	0.258	G038	
V0212	0.893	V022		G039	
V0214		V0212	0.167	G0310	
B022	0.686		0.207	G0311	
	0.799	V0214		G0312	
B023	0.843	B022	0.11	G0313	
B025	0.683	B023		G0315	
	0.828	B025	0.347	G0316	
B026	0.668		0.388	G0317	
	0.828	B026	0.306	G318	
B029	0.677		0.343	G0319	
G031	0.664	B029		G0321	
G032		G031	0.33	G0322	
G035	0.786		0.368	G0323	
	0.917	G032		G0324	
G036		G035		G0325	0.293
G037	0.931	G036	0.397	G0326	
G038	0.808		0.427	G0327	
	0.935	G037	0.236	G0328	
G039	0.803	G038		G0329	
G0310	0.931	G039	0.229	G0330	
G0311	0.886		0.271	G0331	0.34
G0312	0.477	G0310	0.204	G0332	
G0313	0.931	G0311		G0334	0.231
G0315	0.663	G0312	0.413	G0336	0.299
G0316	0.701		0.448	TA024	
	0.805	G0313	0.233	O008	

G0317	0.791	G0315	0.328	V025	
	0.917	G0316	0.229	V024	
G0318	0.939		0.267	BJ001	0.287
G0319	0.698	G0317	0.422	TA021	
	0.793		0.452	CS001	
G0321	0.756	G318	0.34	A029	
	0.854	G0319	0.231	B021	
G0322	0.686	G0321	0.248	V0213	
	0.804	G0322	0.158	A0210	0.361
G0323	0.922	G0323	0.22	AZ022	
G0324	0.939		0.275	H021	
G0325	0,799	G0324	0.248	T009	0.293
G0326	0.636		0.289	T008	0.293
	0.727	G0325	0.229	T001	
	0.818	G0326	0.168	H004	
G0327	0.706		0.226	H0018	
G0328	0.948	G0327		O0011	
G0329	0.917	G0328	0.21	BJ0012	0.293
G0330	0.805	G0329	0.229	H007	0.299
G0331	0.808	G0330	0.431	H0012	
	0.935		0.46	H001	
G0332	0.886	G0331	0.191	G034	
G0334	0.863	G0332	0.221	G0300	
G0336	0.9	G0334		G0333	
TA024		G0336	0.175	G0320	
O008	0.548		0.207	MJ031	
	0.681	TA024		B033	0.292
V025	0.778	O008	0.314	B0210	
	0.869		0.343	B027	
V024	0.481	V025		B024	
BJ001	0.477	V024		H0119	
TA021	0.791	BJ001		H0120	0.277
CS001	0.477	TA021		B028	0.293
A029	0.662	CS001		H016	
	0.832	A029	0.31	H013	
B021			0.355	H012	
V0213	0.763	B021	0.322	H015	
	0.854		0.368	H0111	
A0210	0.803	V0213		O0018	
AZ022	0.883	A0210	0.253	CH0010	
H021	0.476	AZ022	0.275	C041	
T009			0.307	C042	
T008	0.879	H021	0.308	C043	
T001	0.76		0.368	FH041	0.279
	0.847	T009	0.173		
H004	0.9		0.204		
H0018	0.669	T008			
O0011	0.574	T001			
	0.683	H004	0.183		
BJ0012	0.921		0.215		
H007	0.683	H0018			
	0.819	O0011	0.33		
H0012	0.73		0.372		
	0.828	BJ0012	0.135		
H001	0.912	H007	0.135		
G034	0.668	H0012	0.183		
	0.795		0.215		
G0300		H001	0.315		

G0333	0.695		
	0.812	G034	0.355
G0320	0.802	G0300	0.279
MJ031	0.904		0.31
B033	0.929		0.347
B0210		G0333	
B027		G0320	0.158
B024	0.73	MJ031	
	0.799	B033	
H0119	0.808	B0210	0.322
H0120			0.375
B028	0.886	B027	0.328
H016	0.686		0.381
H013	0.886	B024	
H012	0.886	H0119	0.434
H015	0.843	H0120	
H0111	0.691	B028	
	0.819	H016	0.315
O0018	0.869		0.368
CH0010	0.886	H013	0.288
C041	0.893	H012	0.244
C042	0.811	H015	0.177
C043	0.767	H0111	0.306
	0.865		0.343
FH041		O0018	
		CH0010	
		C041	0.163
			0.195
		C042	0.14
		C043	0.285
		FH041	0.549

Tabla 25. Diferentes grupos de acuerdo a las diferentes características que se tuvieron en cuenta para la aracterización de los aislamientos de *P. tritici-repentis*

GRUPO 1		LC	NºST	ESP	RPC	COLOR	SUP	BORDE	FORMA	MORF	DMA	PC	%SAC	E	F	P	
CP021		●	< 149	< 6	2 a 4	> 1	LG	AC	E	C	PL	M	P3	0	aaB3B3	A1A1	aa
MJ032		■	< 149	< 6	> 4	> 1	LG	AC	F	C	PL	M	P1	0.388	aaB2B3	A2A2	aa
ARR031		☾	< 149	< 6	> 4	> 1	LG	AC	F	C	PL	M	P4	0.504	A1A1bb	aa	aa
ARR034	*	☾	< 149	< 6	> 4	> 1	LG	AC	F	C	PL	M	P4	0.775	A4A4B2B2	aa	A3A3
25M034		☾	< 149	< 6		1 > 1	LG	AC	F	C	D	E	P2	0.568	A4A4B2B2	A1A1	aa
T0017	*	■	< 149	< 6	2 a 4	> 1	B	AC	F	C	PL	E	P2	0.193	aaB2B3	A1A1	A2A2
N022		●	< 149	< 6		0 > 1	LG	R	F	C	D	A	P3	0.504	aaB3B3	A1A1	aa
G031		●	< 149	< 6	2 a 4	> 1	LG	AC	F	C	P	M	P4	0.151	A3A3bb	A2A2	aa
G037		☾	< 149	< 6	2 a 4	> 1	LG	AC	F	C	P	M	P3	0.09	aaB1B1	A1A1	aa
G039		☾	< 149	< 6	> 4	> 1	LG	AC	F	C	P	M	P4	0.179	aaB2B2	A2A3	aa
G0316		☾	< 149	< 6	> 4	> 1	LG	AC	F	C	P	M	P3	0.249	aaB1B2	A2A3	aa
G0323		■	< 149	< 6	> 4	> 1	LG	AC	F	C	P	M	P2	0.331	aaB2B2	A2A3	aa
G0327		■	< 149	< 6	> 4	> 1	LG	AC	F	C	D	M	P4	0.665	A1A1bb	aa	aa
G0329		■	< 149	< 6	> 4	> 1	LG	AC	F	C	P	M	P3	0.519	aaB1B1	A1A1	aa
TA021	*	●	< 149	< 6	2 a 4	> 1	LG	AC	F	C	PL	M	P2	1.617	aaB2B2	aa	aa
T001		■	< 149	< 6		1 > 1	B	AC	F	F	PL	E	P2	0.311	aaB2B3	aa	aa
B0210		■	< 149	< 6	2 a 4	> 1	B	R	F	C	P	A	P2	1.255	aabb	A2A2	aa
P026	*	■	< 149	< 6		1 > 1	LG	AC	F	C	PL	M	P4	0.79	A1A1bb	A4A4	aa
GRUPO 2																	
O0015		☾	> 149	< 6		1 > 1	B	AC	F	C	PL	E	P4	0.297	A3A4B1B1	A2A2	aa
P021		■	> 149	< 6	2 a 4	> 1	LG	AC	F	C	PL	M	P4	0.41	A1A1bb	A3A4	aa
A021	*	□	> 149	< 6	2 a 4	> 1	S	R	E	C	PL	M	P3	1.082	aabb	aa	A2A2
T006		■	> 149	< 6		1 > 1	B	AC	F	F	PL	E	P1	0.755	aaB4B4	A1A1	aa
T0012		■	> 149	< 6		1 > 1	B	AC	E	C	PL	E	P1	0.11	aabb	A2A2	aa
N021	*	●	> 149	< 6		0 > 1	LG	AC	F	C	PL	E	P4	0.506	aaB4B4	aa	A2A2
V021		●	> 149	< 6		1 > 1	LG	AC	F	C	D	A	P3	0.346	aaB2B2	A1A1	aa
G0312		☾	> 149	< 6	2 a 4	> 1	LG	AC	F	C	P	M	P3	0.464	A2A2bb	A2A2	aa
G0332		★	> 149	< 6		1 > 1	LG	AC	F	C	P	M	P1	0.186	aaB4B4	A1A1	A1A1
G034	*	●	> 149	< 6	> 4	> 1	LG	AC	F	C	PL	M	P2	1.073	A2A4bb	A1A1	aa
G0300		●	> 149	< 6	> 4	> 1	LG	AC	F	C	D	M	P3	0.498	aabb	A2A2	aa
MJ031		■	> 149	< 6	> 4	> 1	LG	AC	F	C	PL	E	P2	0.083	aaB4B4	aa	aa
B024	*	■	> 149	< 6	2 a 4	> 1	LG	AC	F	C	PL	E	P2	0.926	aaB1B2	aa	aa

GRUPO 3																	
o001	*	🌒	< 149	< 6	> 4	0.50-0.99	LG	AC	F	C	PL	E	P4	2.095	A3A3bb	aa	aa
BJ0011	*	🔴	> 148	< 6	2 a 4	0.50-0.99	RB	L	E	C	D	A	P3	0.359	A2A2bb	A2A2	A1A1
CS002		🔴	< 149	< 6	> 4	0.50-0.99	S	L	E	C	PL	M	P3	0.055	aabb	aa	A1A1
G0311		🌙	> 149	< 6	> 4	0.50-0.99	LG	AC	F	C	D	M	P3	0.311	aaB4B4	aa	aa
o008		🌒	> 149	< 6	> 4	0.50-0.99	B	AC	F	C	PL	E	P1	0.401	A2A3bb	A2A2	aa
o0011		🌒	> 149	< 6	> 4	0.50-0.99	B	AC	F	C	PL	E	P2	0.715	A2A3bb	A2A2	aa
G0320		⬛	< 149	< 6	> 4	0.50-0.99	LG	AC	F	C	D	M	P2	0.637	aaB2B2	A1A1	aa
GRUPO 4																	
CH002	*	🔴	> 149	< 6	2 a 4	0.50-0.99	S	AC	F	C	PL	M	P3	0.693	A4A4B2B2	A1A1	aa
CH005		🔴	> 149	< 6	2 a 4	0.50-0.99	B	AC	F	C	PL	M	P4	0.388	A3A3bb	A2A2	aa
CH006		🔴	< 149	< 6	2 a 4	0.50-0.99	S	AC	F	C	PL	M	P4	0.166	aabb	A1A1	aa
CH007		🔴	> 149	< 6	2 a 4	0.50-0.99	B	AC	F	C	D	A	P3	0.608	aabb	A2A2	aa
G0313		🌙	< 149	< 6	2 a 4	0.50-0.99	LG	AC	F	C	P	M	P3	0.284	aaB2B2	A1A1	aa
G0321		⬛	< 149	< 6	2 a 4	0.50-0.99	LG	AC	F	C	D	M	P4	0.269	aaB2B3	A1A1	aa
V024	*	🟡	< 149	< 6	2 a 4	0.50-0.99	LG	AC	F	C	PL	E	P1	0.22	A3A3bb	aa	aa
H021	*	🌒	< 149	< 6	2 a 4	0.50-0.99	B	R	F	C	D	A	P3	0.415	A2A2bb	A2A2	aa
T009	*	🔴	< 149	< 6	2 a 4	0.50-0.99	B	AC	F	F	PL	E	P3	0.672	aabb	A1A1	aa
H015	*	🌒	< 149	< 6	2 a 4	0.50-0.99	B	L	E	C	PL	E	P4	1.185	aaB3B3	A1A1	aa
CH0010		🔴	> 149	< 6	2 a 4	0.50-0.99	S	AC	F	C	D	A	P2	0.511	aaB4B4	Aa	aa

GRUPO 5

00017	*	☾	< 149	< 6	1 0.50-0.99	B	AC	F	C	PL	E	P4	1.677	A1A1bb	aa	aa
P023		■	< 149	< 6	1 0.50-0.99	LG	AC	F	C	PL	E	P3	0.27	A1A1bb	aa	aa
P032		■	< 149	< 6	1 0.50-0.99	LG	R	F	C	PL	M	P4	0.159	A1A1bb	aa	aa
P0313		■	< 149	> 6	1 0.50-0.99	LG	R	F	C	PL	M	P4	0.076	A1A1bb	aa	aa
25M033	*	☾	< 149	< 6	1 0.50-0.99	LG	AC	F	C	D	E	P4	1.178	aaB2B2	aa	aa
H0124		☾	> 149	< 6	1 0.50-0.99	B	L	F	C	D	E	P4	0.221	A2A2bb	A2A2	aa
H0110		☾	< 149	< 6	1 0.50-0.99	B	L	E	C	PL	E	P2	0.347	A2A2bb	A2A2	A1A1
H0113		☾	< 149	< 6	1 0.50-0.99	B	L	E	C	PL	E	P2	0.441	A2A2bb	aa	aa
H006		☾	< 149	< 6	1 0.50-0.99	B	L	E	C	PL	E	P4	0.589	A2A2bb	aa	aa
H008	*	☾	< 149	> 6	1 0.50-0.99	B	L	E	C	PL	M	P4	1.561	A2A2bb	A2A2	A1A1
H0017		☾	< 149	< 6	1 0.50-0.99	B	L	E	C	PL	M	P1	0.186	aaB3B3	A1A1	aa
H0019		☾	< 149	< 6	1 0.50-0.99	B	L	E	C	PL	M	P3	0.31	A2A2bb	A2A2	A1A1
V0214		●	> 149	< 6	1 0.50-0.99	LG	AC	F	C	PL	M	P1	0.874	aabb	aa	aa
B022	*	■	> 149	< 6	1 0.50-0.99	LG	R	E	C	D	M	P3	1.09	A4A4B2B2	A2A2	aa
B023		■	< 149	< 6	1 0.50-0.99	LG	AC	E	C	PL	E	P3	0.506	aaB3B3	aa	aa
B025		■	> 149	< 6	1 0.50-0.99	B	AC	E	C	PL	A	P1	0.721	A3A4B1B1	A2A2	aa
B026		■	< 149	< 6	1 0.50-0.99	B	AC	F	C	PL	E	P2	0.887	A3A3B1B1	A2A2	aa
G0325	*	■	< 149	< 6	1 0.50-0.99	LG	AC	F	C	P	M	P4	0.692	A1A1bb	A1A1	A2A2
TA024		●	< 149	< 6	1 0.50-0.99	LG	AC	F	C	PL	M	P4	0.226	aabb	aa	aa
BJ001		■	> 149	< 6	1 0.50-0.99	RB	L	E	C	D	A	P2	0.18	A2A2bb	aa	A2A2
A029	*	□	< 149	< 6	1 0.50-0.99	LG	AC	F	C	PL	M	P1	1.039	A3A3B1B1	A2A2	aa
B021	*	■	< 149	< 6	1 0.50-0.99	S	R	E	C	PL	M	P2	0.345	aabb	A2A2	aa
A0210	*	□	< 149	> 6	1 0.50-0.99	LG	R	E	C	D	A	P2	1.178	aaB2B2	A1A1	A3A3
AZ022		■	> 149	< 6	1 0.50-0.99	LG	R	F	C	D	A	P4	0.348	aaB4B4	A1A2	aa
T008		■	< 149	< 6	1 0.50-0.99	RB	AC	F	F	PL	E	P3	0.54	aaB4B4	aa	A2A2
BJ0012		■	> 149	< 6	1 0.50-0.99	GOLV	L	E	C	D	A	P2	0.4	aaB4B4	A1A1	A2A2
H007		☾	< 149	> 6	1 0.50-0.99	B	L	E	C	PL	M	P2	0.505	A3A4bb	A1A1	A2A2
H0012		☾	> 149	< 6	1 0.50-0.99	B	L	E	C	PL	E	P2	0.111	aaB2B3	A1A1	aa
H001		☾	> 149	< 6	1 0.50-0.99	B	L	E	C	PL	M	P2	0.214	aaB4B4	A2A2	aa
H0119	*	☾	> 149	< 6	1 0.50-0.99	B	L	F	C	PL	E	P2	1.276	aaB2B2	A2A2	aa
H0120		☾	< 149	< 6	1 0.50-0.99	B	L	E	C	PL	E	P2	0.471	aabb	aa	A2A2
H013		☾	< 149	< 6	1 0.50-0.99	B	AC	E	C	PL	E	P3	0.11	aaB4B4	A2A2	aa
C041		■	< 149	< 6	1 0.50-0.99	B	R	F	C	D	E	P2	0.735	aaB4B4	A1A1	aa
C042		■	< 149	< 6	1 0.50-0.99	B	R	F	C	D	E	P1	0.269	aaB2B2	A1A1	aa
C043		■	< 149	< 6	1 0.50-0.99	B	R	F	C	D	E	P2	1.338	aaB2B3	A1A1	aa

GRUPO 6																	
OL022	*	■	> 149	> 6	2 a 4	0.50-0.99	LG	AC	F	C	PL	M	P4	1.025	aaB3B3	A2A3	aa
O0020	*	☾	> 149	> 6	2 a 4	0.50-0.99	B	AC	F	C	PL	E	P2	0.499	A3A3bb	aa	aa
O0014		☾	> 149	> 6	2 a 4	0.50-0.99	B	AC	F	C	PL	E	P4	0	aabb	aa	aa
O0019	*	☾	> 149	> 6	2 a 4	0.50-0.99	B	AC	F	C	PL	E	P4	1.06	aabb	aa	aa
P022	*	■	> 149	> 6		1 0.50-0.99	LG	AC	F	C	PL	M	P3	1.048	A1A1bb	aa	aa
P028		■	> 149	> 6		1 0.50-0.99	LG	R	F	C	P	M	P4	0.346	aaB3B4	aa	aa
9J032		■	> 149	> 6	> 4	0.50-0.99	LG	AC	F	C	D	M	P1	0.408	aaB1B1	A1A1	aa
25M036		☾	> 149	> 6	2 a 4	0.50-0.99	LG	AC	F	C	D	E	P1	0.27	aabb	aa	aa
H0100		☾	> 149	> 6	> 4	0.50-0.99	B	L	F	C	PL	E	P4	0.014	A2A2bb	A2A2	aa
H0114		☾	> 149	> 6		1 0.50-0.99	B	L	E	C	PL	E	P2	0.09	A2A2bb	aa	aa
H0011	*	☾	> 149	> 6		1 0.50-0.99	B	L	E	C	PL	E	P4	0.971	aaB4B4	aa	aa
H0014		☾	> 149	> 6		1 0.50-0.99	B	L	E	C	PL	E	P1	1.033	aaB3B3	aa	aa
CH004	*	■	> 149	> 6	2 a 4	0.50-0.99	S	AC	F	C	PL	E	P3	0.562	A3A3bb	A2A2	aa
G035	*	●	> 149	> 6	> 4	0.50-0.99	LG	AC	F	C	P	M	P1	1.277	A4A4B1B1	aa	aa
G036		☾	> 149	> 6	2 a 4	0.50-0.99	LG	AC	F	C	D	M	P1	0.207	aabb	A2A2	aa
G0317		☾	> 149	> 6	2 a 4	0.50-0.99	LG	AC	F	C	P	M	P3	0.566	A4A4B2B2	A2A2	aa
G318		☾	> 149	> 6	2 a 4	0.50-0.99	LG	AC	F	C	P	M	P4	0.269	aaB1B1	A2A2	aa
G0319		☾	> 149	> 6	2 a 4	0.50-0.99	LG	AC	F	C	P	M	P1	0.45	aaB1B2	A1A1	aa
G0324		■	> 149	> 6		1 0.50-0.99	LG	AC	F	C	P	M	P4	0.393	aaB2B2	A3A3	aa
G0328		■	> 149	> 6	> 4	0.50-0.99	LG	AC	F	C	P	M	P4	0.498	aaB2B2	A1A1	aa
G0331		★	> 149	> 6	> 4	0.50-0.99	LG	AC	F	C	P	M	P1	0.199	A4A4B2B2	A1A1	A3A3
G0336		■	> 149	> 6	2 a 4	0.50-0.99	LG	AC	F	C	P	M	P1	0.317	aaB4B4	A1A1	A2A2
V0213		●	> 149	> 6	2 a 4	0.50-0.99	LG	L	E	C	PL	E	P1	0.463	aaB2B3	aa	aa
H004	*	☾	> 149	> 6		1 0.50-0.99	B	L	E	C	PL	M	P2	1.178	aaB4B4	A1A1	aa
H016		☾	> 149	> 6		1 0.50-0.99	B	L	E	C	PL	E	P3	0.636	A2A2bb	A2A2	aa
H012	*	☾	> 149	> 6		1 0.50-0.99	B	L	E	C	PL	E	P4	0.609	aaB4B4	A1A1	aa
AZ024	*	■	> 149	> 6		1 0.50-0.99	LG	R	F	C	D	A	P2	0.83	aabb	aa	aa
V025	*	●	> 149	> 6		1 0.50-0.99	LG	AC	F	C	PL	E	P2	0.735	aaB2B3	aa	aa
CS001	*	■	> 149	> 6		1 0.50-0.99	S	AC	E	C	D	E	P1	0.934	A2A2bb	aa	aa
G0322		■	< 149	> 6	> 4	0.50-0.99	LG	AC	F	C	P	M	P4	0.478	A4A4B2B2	A1A1	aa

GRUPO 7

TA022	*	●	> 149	> 6	0	> 1	LG	AC	F	C	PL	M	P1	1,491	A1A1bb	aa	aa
AZ021	*	■	> 149	> 6	1	> 1	LG	AC	F	C	P	M	P1	1,136	aaB4B4	A1A1	aa
AZ023	*	■	> 149	> 6	0	> 1	LG	R	F	C	PL	A	P4	0	A1A1bb	A3A4	A1A1
O0012	*	◐	> 149	> 6	2 a 4	> 1	B	AC	F	C	PL	E	P4	1,163	A1A1bb	aa	aa
P026	*	■	< 149	< 6	1	> 1	LG	AC	F	C	PL	M	P4	0,79	A1A1bb	A4A4	aa
P027		■	> 149	> 6	1	> 1	B	AC	E	C	PL	M	P4	0,311	A3A4bb	A2A2	aa
CK032		□	> 149	> 6	0	> 1	LG	AC	F	C	PL	E	P1	0,076	A2A2bb	A3A3	aa
CK033		□	> 149	> 6	2 a 4	> 1	LG	AC	F	C	PL	E	P2	0,075	aabb	A3A3	aa
CK034		□	> 149	> 6	2 a 4	> 1	LG	AC	F	C	PL	E	P1	0,568	aaB2B4	A1A1	aa
S031	*	■	> 149	> 6	2 a 4	> 1	LG	AC	F	C	PL	M	P1	1,24	A3A4bb	A1A1	aa
S032	*	■	> 149	> 6	> 4	> 1	LG	AC	F	C	PL	M	P2	1,422	A2A4bb	aa	A3A3
9J031		■	> 149	> 6	> 4	> 1	LG	AC	F	C	D	M	P1	0,492	aaB4B4	aa	A2A2
ARR035	*	◐	> 149	> 6	> 4	> 1	LG	AC	F	C	PL	M	P1	1,274	aaB1B1	A1A1	aa
25M031		◐	> 149	> 6	1	> 1	LG	AC	F	C	D	M	P4	0,228	aaB2B2	aa	aa
25M035		◐	> 149	> 6	1	> 1	LG	AC	F	C	D	E	P4	0,95	aaB2B2	aa	aa
H0115		◐	> 149	> 6	1	> 1	B	L	E	C	PL	E	P2	0,159	A2A2bb	aa	aa
CH008		■	> 149	> 6	1	> 1	S	AC	F	C	PL	M	P3	0,36	aabb	A2A2	aa
CH009		■	> 149	> 6	1	> 1	RB	AC	F	C	PL	M	P1	0,408	aaB3B3	A1A1	aa
V022		●	> 149	> 6	0	> 1	B	R	E	C	D	A	P4	1,797	aaB3B3	aa	aa
V0212		●	> 149	> 6	2 a 4	> 1	B	AC	E	C	PL	E	P4	0,339	aaB4B4	A1A1	aa
B029		■	> 149	> 6	2 a 4	> 1	LG	AC	F	C	PL	E	P3	0,443	A3A3bb	aa	aa
G032		●	> 149	> 6	2 a 4	> 1	LG	AC	F	C	P	M	P3	0,291	aabb	aa	aa
G038		◐	> 149	> 6	> 4	> 1	LG	AC	F	C	P	M	P1	0,207	A4A4B2B2	aa	aa
G0310		◐	> 149	> 6	> 4	> 1	LG	AC	F	C	P	M	P3	0,337	aaB2B2	aa	aa
G0315		◐	> 149	> 6	> 4	> 1	LG	AC	F	C	P	M	P1	0,228	A3A3bb	A1A1	aa
G0326		■	> 149	< 6	> 4	0.50-0.99	LG	AC	F	C	P	M	P4	0,602	A4A4B1B2	A1A1	aa
G0330		■	> 149	> 6	> 4	> 1	LG	AC	F	C	P	M	P3	0,2	aaB2B2	A2A2	aa
G0334		■	> 149	> 6	1	> 1	LG	AC	F	C	P	M	P1	0,408	A1A1bb	aa	aa
G0333	*	■	> 149	> 6	2 a 4	> 1	LG	AC	F	C	D	M	P2	1,262	aaB1B2	aa	aa
B033		■	> 149	> 6	> 4	> 1	B	R	F	C	P	M	P2	0,701	aaB4B4	aa	A2A2
B027		■	> 149	> 6	1	> 1	LG	AC	E	C	D	A	P2	0,442	aabb	A2A2	aa
O0018	*	◐	> 149	< 6	2 a 4	0.50-0.99	B	AC	F	C	PL	E	P3	0,172	aaB3B3	aa	aa

GRUPO 8

P031		■	< 149	> 6	1	> 1	LG	R	F	C	D	M	P3	0,166	A2A2bb	A1A1	A3A3
CHI0313		■	< 149	> 6	0	> 1	LG	AC	F	C	PL	A	P1	0,422	A2A3B1B1	A2A2	aa
AD031	*	●	< 149	> 6	2 a 4	> 1	LG	AC	F	C	P	M	P1	0,81	A1A1bb	aa	aa
25M032		◐	< 149	> 6	1	> 1	LG	AC	F	C	D	E	P1	0,381	aaB2B2	A1A1	aa
25M037		◐	< 149	> 6	2 a 4	> 1	B	L	F	C	P	E	P2	0,062	A2A2bb	A2A2	aa
H003	*	◐	< 149	> 6	1	0-0.49	B	L	E	C	PL	M	P2	0,901	aabb	aa	A2A2
H0018		◐	< 149	> 6	1	> 1	B	L	E	C	PL	M	P2	0,387	A3A3bb	aa	aa
B028		■	< 149	> 6	2 a 4	0.50-0.99	LG	AC	F	C	PL	E	P3	0,435	aaB4B4	aa	aa

GRUPO 9

H0111		◐	> 149	> 6	1	0-0.49	B	L	E	C	PL	E	P2	0,351	A3A4bb	A2A2	aa
FH041		F	< 149	> 6	1	0-0.49	B	R	E	C	P	E	P3	0,007	aabb	A3A3	A2A2

Referencias: ● Baguette 10; ■ K. Don Enrique; ■ K. Escorpion;

■ K. Zozzal; ■ K. Escudo; ■ K. Chorrinche; ■ K. Chajá; ■ B. Biguá; ■ B. Guapo; ■ B. Brasil; ■ B. Mataco; ■ B. Sureño; ■ INTA Tijereta

LC = Longitud conidial; N°ST = número de septos por conidio; ESP = producción de conidios; RPC = ritmo promedio de crecimiento.

COLOR: OLV = OLIVACEUS; OLVB = OLIVACEUS BLACK; OLVBF = OLIVACEUS BUFF; GOLV = GREENISH OLIVACEUS; S = SALMON;

B = BUFF; RB = ROSY BUFF; LG = LAVANDER GREY

SUP = SUPERFICIE: L = LISA; R 0 RUGOSA, AC = ANILLOS CONCÉNTRICOS

BORDE: E = ENTERO; F = FILAMENTOSO

FORMA: C = CIRCULAR; FL = FILAMENTOSA

MORF = MORFOLOGÍA: D = DENSA; P = PENACHO; PL = PELUSA

DMA = DESARROLLO MICELIO AEREO: E = ESCASO; M = MODERADO; A = ABUNDANTE

PC= PATRON DE CRECIMIENTO P1: TIPO I; P2: TIPO II; P3: TIPO III; P4: TIPO IV

% SAC = MEDIA DE LA SEVERIDAD ACUMULADA POR AISLAMIENTO

E = GENOTIPO PARA ESTEARASAS

F = GENOTIPO PARA FOSFATASAS

P = GENOTIPO PARA PEROXIDASAS

GRUPOS POR ISOENZIMAS

1	7
2	8
3	9
4	10
5	11
6	12

BIBLIOGRAFIA

- Ackermann, M. 1987. Resistance among winter wheats to *Pyrenophora tritici-repentis* isolates and variability in fungal growth, color, sporulation and pathogenicity. Th. North Dakota State University Department of Plant Pathology, Fargo, North Dakota, USA.
- Adde, E. A. y Pfender, W. F. 1989. The effect of primary inoculum level of *Pyrenophora tritici-repentis* on tan spot development in wheat. *Phytopathology*. 79: 873-877.
- Agrios, G. N. 2004. *Plant Pathology*. 5th edition. Elsevier, Academic Press, Burlington, USA. 922 pp.
- Alcorn, J. L. 1983. Generic concepts in *Drechslera*, *Bipolaris* and *Exserohilum*. *Mycotaxon*. XVII: 1-86.
- Alfenas, A. C., Jeng, R. S. y Hubbes, M. 1984. Isozyme and protein patterns of isolates of *Cryphonectria cubensis* differing in virulence. *Canadian Journal of Botany*. 62: 1756-1762.
- Ali, S. y Buchenau, G. W. 1992. Incidence of toxin-producing pathotypes of *Pyrenophora tritici-repentis* in South Dakota. *Phytopathology*. 82: 1159 (Abstract).
- Ali, S. y Francis, L. J. 2001_a. First report of tan spot on wheat in Pakistan. *Plant Disease*. 85: 1031.
- Ali, S. y Francis, L. J. 2001_b. Recovery of *Pyrenophora tritici-repentis* from barley and reaction of 12 cultivars to five races and two host-selective toxins. *Plant Disease*. 85: 580-584.
- Ali, S. y Francis, L. J. 2002_a. A new race of *Pyrenophora tritici-repentis* from Brazil. *Plant Disease*. 86: 9.
- Ali, S. y Francis, L. J. 2002_b. Race structure of *Pyrenophora tritici-repentis* isolates obtained from wheat in South America. *Plant Protection Science*. 38 (Special Issue 2): 302-304.
- Ali, S. y Francis, L. J. 2003. Population race structure of *Pyrenophora tritici-repentis* prevalent on wheat and non-cereal grasses in the Great Plains. *Plant Disease*. 87: 418-422.
- Ali, S., Francis, L. J. y de Wolf, E. D. 1990. First report of *Pyrenophora tritici-repentis* race 5 from North America. *Plant Disease*. 83: 591.
- Alippi, A. M., Perelló, A. E., Sisterna, M. N., Greco, N. y Cordo, C. 2000. Potencial of spore-forming bacteria as biocontrol agents of wheat foliar diseases under laboratory and greenhouse conditions. *Z. Pflanzkrankh. Pflanzenschutz*. 107: 155-169.
- Andrade, D. E. G. T., Assis, T. C., Michereff, S. J. y Menezes, M. 1997. Variabilidade isoenzimática entre isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* de uma área de plantio de tomateiro. *Fitopatologia Brasileira*. 22: 243 (Resumo).

- Annone, J. G. 1985. Presencia de la mancha tostada del trigo (*Helminthosporium tritici-repentis*). Carpeta de Producción Vegetal. TRIGO. TOMO VII. Inf. N°88. EEA INTA. Pergamino, Buenos Aires, Argentina.
- Annone, J. G. 1995. Resistencia genética a agentes fitopatógenos: Conceptos sobre hospedante, patógeno, relación hospedante-patógeno y manejo de la resistencia. En: Curso de manejo de enfermedades del Trigo. Editores: Kohlí, M. M., Annone, J. G. y García, R. Centro Internacional de Capacitación INTA-CIMMYT. Pergamino, Buenos Aires, Argentina.
- Annone, J. G. 1996. Experiencias de tratamientos con fungicidas en trigo en el norte de la provincia de Buenos Aires. In: Primera Jornada de Control Químico de Enfermedades del Trigo en Sistemas de Alta Productividad. CIC "Dr. Norman Borlaog INTA/CIMMYT-CR BAN/INTA-Programa de Trigo de CIMMYT para el Cono Sur. Proyecto IPG/INTA. Bolsa de Cereales de Buenos Aires. 27-28 de junio de 1996. 7 pp.
- Annone, J. G. 2005. El desafío del manejo integrado de enfermedades de los cultivos en sistemas agrícolas conservacionistas: El caso de la sanidad del trigo en siembra directa. 13th Congreso Latinoamericano de Fitopatología, Villa Carlos Paz, Córdoba, Argentina. 19-22 de abril de 2004. pp 161-164.
- Annone, J. 2006. Las principales enfermedades del trigo en Argentina: su importancia relativa en las Regiones productoras Norte y Sur. In: Congreso A Todo Trigo. Conocimiento y Producción. Federación de Centros y Entidades Gremiales de Acopiadores de Cereales, Hotel Sheraton, 18 y 19 de Mayo de 2006. Mar del Plata, Argentina. 53-58.
- Annone, J. G., Botta, G. e Ivancovich, a. 1994. Ocurrencia de la mancha bronceada del trigo en el área norte de la provincia de Buenos Aires. In: III Congreso Nacional de Trigo y I Simposio Nacional de Cereales de siembra Otoño-Invernal. Dpto. de Agronomía, Universidad Nacional del sur, Asociación de ingenieros Agrónomos del Norte de la provincia de Buenos Aires, Bahía Blanca, Buenos Aires. 26-28 de octubre de 1994. 205-207.
- Annone, J y García, R. 2004. Cuantificación del efecto supresivo de la fertilización nitrogenada sobre la expresión de síntomas de la mancha amarilla en cultivares de trigo de ciclo intermedio-largo y precoz en siembra directa. In: VI Congreso Nacional de Trigo, IV Simposio Nacional de Cultivos de Siembra Otoño-invernal. Universidad Nacional del Sur/departamento de Agronomía, Bahía Blanca, Argentina. 193-194.
- Annone, J. G. y Kohlí, M. 1996. Principales enfermedades del trigo asociadas con la siembra directa en Argentina: Importancia y medidas de protección. In: Trabajos Presentados, IV Congreso

-
- Nacional de Siembra Directa: Una estrategia para todos. AAPRESID. Villa Giardino, Córdoba, Argentina. 27-30 de marzo de 1996. 135-159.
- Araya, C. M. 2003. Coevolución de interacciones hospedante-patógeno en frijol común. *Fitopatología Brasileira*. 28: 221-228.
 - Bach, E. E. y Kimati, H. 1995. Análise serológica e electroforética de *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard y Suags, isolado de milho, sorgo e capim massambará. Tese de Mestrado, ESALQ, 132.
 - Bach, E. E. y Kimati, H. 2004. Esterase electrophoretic analysis to distinguish isolates between *Bipolaris* spp. and *Drechslera tritici-repentis* from wheat. *World Journal Microbiology and Biotechnology*. 20: 199-202.
 - Barrus, M. F. 1942. Yellow spot disease of wheat in New York State. *Plant Dis. Rep.* 26:246.
 - Beever, R.E. y D.J.W. Burns. 1980. Phosphorus uptake, storage and utilization by fungi. *Adv. Bot. Res.* 8: 127-219.
 - Bernier, L., Jeng, R. S. y Rubbes, M. 1983. Differentiation of aggressive and nonaggressive isolates of *Ceratocystis ulmi* by gel electrophoresis of intramycelial enzymes. *Mycotaxon*. 17: 456-472.
 - Bisset, J. A. 2002. Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia. *Rev. Cubana Medic. Tropical*. 54 (3) 202-219.
 - Bocchese, C. A. C., Martinelli, J. A., Matsumura, A. T. S., Federizzi, L. C. y Prestes, A. M. 2003. Virulencia, atividade enzimática e padrões de isoesterasas de isolados de *Pyrenophora chaetomioides*, agente etiológico da mancha de grãos e folhas de aveia. *Fitopatologia Brasileira*. 28: 011-016.
 - Bonde, M. R., Micales, J. A. y Peterson, G. L. 1993. The use of isozyme analysis for identification of plant pathogenic fungi. *Plant Disease*. 77 (10): 961-968.
 - Bonde, M. R., Peterson, G. L. y Maas, J. L. 1991. Isozyme comparison for identification of *Colletotrichum* species pathogenic to strawberry. *Phytopathology*. 81 (12): 1523-1528.
 - Brammer, S. P. 2000. Mapeamento de genes de resistência parcial á ferrugem da folha do trigo em cultivares brasileiras de trigo (*Triticum aestivum* L. em Thell). Tese de Doutorado. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.
 - Burdon, J. J. y Roelfs, A. P. 1985. Isozyme and virulence variation in asexually reproducing populations of *Puccinia graminis* and *P. recondita* on wheat. *Phytopathology*. 75 (8): 907-913.
 - Burgess, T., Malajckuz, N. y Dell, B. 1995. Variation in *Pisolithus* and basidiospore morphology, culture characteristics and analysis of polypeptides using 1D SDS-PAGE. *Mycological Research*. 99: 1-13.
-

- Calderini, D. F. 2006. El rendimiento de trigo en el mundo y la brecha entre el rendimiento potencial y el alcanzado: ¿Cómo aumentar el rendimiento alcanzable?. In: Congreso A Todo Trigo. Conocimiento y Producción. Federación de Centros y Entidades Gremiales de Acopiadores de Cereales, Hotel Sheraton, 18 y 19 de Mayo de 2006. Mar del Plata, Argentina. 53-58.
- Camargo, T. V., Menezes, M. y Assis, T. c. 1997. Caracterização de isolados de *Fusarium moniliforme* a través da análise electroforética em gel de poliacrilamida. Fitopatologia Brasileira. 22: 254 (Resumo).
- Carmona, M. 1996. Patógenos de semillas de trigo. Importancia y control químico. In: Primera Jornada de Control Químico de Enfermedades del Trigo en Sistemas de Alta Productividad. CIC "Dr. Norman Borlaog INTA/CIMMYT-CRBAN/INTA-Programa de Trigo de CIMMYT para el Cono Sur. Proyecto IPG/INTA. Bolsa de Cereales de Buenos Aires. 27-28 de junio de 1996. 7 pp.
- Carmona, M. 2006. El manejo integrado de las enfermedades del cultivo de trigo, una asignatura pendiente. In: Congreso A Todo Trigo. Conocimiento y Producción. Federación de Centros y Entidades Gremiales de Acopiadores de Cereales, Hotel Sheraton, 18 y 19 de Mayo de 2006. Mar del Plata, Argentina. 161-165.
- Carmona, M., Reis, E. M. and Cortese, P. 1999. Manchas foliares del trigo. Diagnóstico, epidemiología y nuevos criterios para el manejo. Eds de los autores. Buenos Aires, Argentina. 32 pp.
- Carmona, M., Sugia, V., Schmidt, A. y Delfino, S. V. 2001. Control potencial de manchas foliares de trigo, cebada y avena por la rotación de cultivos. Congresos Nacional de Trigo y III Simposio Nacional de Cereales de invierno. Villa Carlos Paz, Córdoba, 24-28 de septiembre de 2001.
- Castro, T. A. M. G. y Bach, E. E. 1993. Electroforese na agricultura. Zootecnia, Nova Odessa. SP. 31: 73-88.
- Chen, R. S., Boeger, J. M., y Mc Donald, B. A. 1994. Genetic stability in a population of pathogenic fungus overtime. Molecular Ecology. 3: 209-218.
- Chen, W., Schneider, R. W. y Hoy, J. W. 1992. Taxonomic and phylogenetic analyses of ten *Pythium* species using isozyme polymorphisms. Phytopathology. 82 (10): 1234-1244.
- Christensen, J. J. y Graham, T. W. 1934. Physiologic specialization and variation in *Helminthosporium gramineum* Rob. University of Minnesota Agricultural Experiment Station.
- Conners, I. L. 1939. Yellow leaf blotch. Can. Plant. Dis. Surv. 19: 12-14.

- Crisci, J. V., y López Armengol, M. F. 1983. Introducción a la teoría y práctica de la Taxonomía Numérica. Cátedra de Introducción a la Taxonomía, Facultad de Cs. Naturales y Museo, UNLP. Serie Biología. Monografía n° 26. Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos, Programa Regional de desarrollo científico y Tecnológico. 132 pp.
- Curl, E.A. y B. Truelove. 1986. The rhizosphere. Springer- Verlag. Berlin. 288 pp.
- Diedicke, H. 1902. Ueberden zusammenhangwischen *Pleospora* und *Helminthosporium* arten. Centrablatt fur Bakteriologie und Parasitenkunde Jena. Abt. 11: 52-59.
- Dorrance, E. A., Miller, O. K. y Warren, H. L. 1999. Comparison of *Stenocarpella maydis* isolates for isozyme and cultural characteristics. Plant Dis. 83 (7): 675-680.
- Drechsler, A. 1923. Some graminicolous species of *Helminthosporium*. J. Agricul. Res. 24: 641-740.
- Dubin, H. J. 1983. Ocurrence of *Pyrenophora tritici-repentis* in the Andean Countries of South America. Plant Disease. 67: 1040.
- Eikboir, J. y Morris, M. 2001. Perspectivas del Mercado Internacional de Trigo: Implicancias para los países de América del Sur. Kohli, M. M., Diaz, M. y Castro, M. (eds). 2003. Estrategias y Metodologías utilizadas en el mejoramiento de trigo. Seminario Internacional, La Estanzuela, Uruguay. CIMMYT- INIA. 3-10.
- Elias, E. 1987. Evaluation on tan spot *Pyrenophora tritici-repentis* in durum wheat *Triticum aestivum* L. var. Durum. PhD Thesis, North Dakota Satae University, Fargo. 66 pp.
- Elias, k. S. y Schneider, W. 1992. Genetic diversity within and among races and vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* as determined by isozyme analysis. Phytopathology. 82 (12): 1421-1427.
- Ellis, M. B. y Waller, J. M. 1976. *Pyrenophora tritici-repentis* (conidial state: *Drechslera tritici-repentis*). Commonw. Mycol. Inst. Descriptions Pathogenic Fungi Bacteria N° 494.
- Effertz, R. J., Anderson, J. A. y Franc, L. J. 2001. Restriction fragment length polymorphism mapping of resistance to two races of *Pyrenophora tritici-repentis* in adult and seedling wheat. Phytopatol. 91: 572-578.
- Engström, K., Brishammar, S., Svensson, C., Benstsson, M. y Andersson, R. 1993. Antrhaquinone from some *Drechslera* species and *Bipolaris sorokiniana*. Mycological Research. 97 (3): 381-384.
- Fernández Valiela, M. V. 1979. Introducción a la Fitopatología vol IV: Hongos y Mycoplasmas. 3° edición. Colección Científica del INTA, Buenos Aires, Argentina.

- Figueroa, M. I. y Schugurensky, A. 2002. Identificación isoenzimática de portainjertos de palto (*Persea americana* M.). Agrosur. 30 (2).
- Friesen, T. L., Ali, S., Kleim, K. K. y Rasmussen, J. B. 2005. population genetic analysis of a global collection of *Pyrenophora tritici-repentis*, causal agent of tan spot of wheat. Phytopathol. 95: 1144-1150.
- Galich, M. T. V. De y Galich, A. N. 1994. Enfermedades de trigo en el área sur de Santa Fe y Córdoba correspondientes a la subregión II Norte. Campaña 1993/94. Informe para Extensión N° 5. EEA INTA Marcos Juárez, Córdoba, 7 pp.
- Gamba, F. M. y Lamari, L. 1998. Mendelian inheritance of resistance to tan spot *Pyrenophora tritici-repentis* in selected genotypes of durum wheat (*Triticum turgidum*). Canadian Journal of Plant Pathology. 20: 408-414.
- Gamba, F. M., Lamari, L. y Brûlé- Babel, A. 1998. Inheritance of race-specific necrotic and chlorotic reactions induce by *Pyrenophora tritici-repentis* in hexaploid wheats. Canadian Journal of Plant Pathology. 20: 401-407.
- Garber, E. D., y Behara, L. 1966. Genetics of phytopathogenic fungi pectinolytic enzymes of virulent and avirulent strains of three phytopathogenic *Penicillia*. Can. J. Bot. 44: 1645-1650.
- Garrassini, L. A. 1958. Microbiología. 1º Edición. Universidad Cent. Venezuela, Sucre. 233 pp.
- Gilchrist, L. 1992. Resistance to *Pyrenophora tritici-repentis* in CIMMYT Bread wheat Germplasm. Advances in Tan Spot Research. Proceeding of the Second International Tan spot workshop. North Dakota State University, Fargo, ND, pp. 44-49.
- Gilchrist, L, Fuentes, S. F. y Isla de Bauer de la M. L. 1984. Determinación de fuentes de resistencia contra *Helminthosporium tritici-repentis* bajo condiciones de campo y de invernáculo. Agrociencia 56: 95-106.
- Harlan, J. R. 1971. Agricultural Origins: Center and Noncenters. Science: 468-473.
- Heiser, C. B. 1990. Seed to civilization. The story of food. Cambridge, Massachusetts, Harvard University Press. Cap I.
- Hellmann, R., y Christ, B. J. 1991. Isozyme variation of physiologic races of *Ustilago hordei*. Phytopathology. 81 (12): 1536-1540.
- Hosford, R. M. Jr. 1971. A form of *Pyrenophora trichostoma* pathogenic to wheat and other grasses. Phytopathology. 61: 28-32.

-
- Hosford, R. M. Jr. 1981. Tan spot. Pages 1-24 *in* R. M. Hosford Jr. ed., Tan Spot of wheat and Related Disease Workshop, North Dakota, State University,. Fargo, ND. 116 pp.
 - Hosford, R. M. Jr. y Busch, R. H. 1974. Losses in wheat caused by *Pyrenophora trichostoma* and *Leptosphaeria avenaria* f. sp. *triticea*. *Phytopathology*. 64: 184-187.
 - Hunger, R. M. y Brown, D. A. 1987. Colony color, growth, sporulation, fungicide sensivity and pathogenicity of *Pyrenophora tritici-repentis*. *Plant Disease*. 71: 907-910.
 - Ito, S. 1930. On some new ascigerous stages os the species of *Helminthosporium* parasitic on cereals. *Proc. Imp. Acad. Tokyo*. 6: 352-355.
 - Ito, S. y Kuribayaski. 1931. The ascigerous forms of some graminicolous species of *Helminthosporium* in Japan. *J, Fac. Agr.* 3 ed. Hokkaido Imper. Univ. Sapporo, Japan 29 (3): 85-125.
 - Ivancovich, A. 1992. Manejo cultural de enfermedades. *Agricultura Sostenible*. *Agricultura Sostenible* N° 16. INTA10 pp.
 - Jeng, R. S. y Rubbes, M. 1983. Identification of aggressive and nonaggressive strains of *Ceratoystis ulmi* by polyacrilamide gradient gel electrophoresis of intramycelial proteins. *Mycotaxon*. 17: 445-455
 - Junquiera, N. t. V., Alfenas, A. C., Chaves, G. M. Zambolin, L. y Gasparotto, L. 1987. Variabilidade isoenzimática de diferentes isolados de *Microcyclus ulei* com diferentes níveis de virulencia. *Fitop. Brasileira*. 12 (3): 208-214.
 - Klein, O. A. 2001. Trigos adaptados a siembra directa-conociemintos y desconociemintos. En: *estrategias y metodología utilizadas en el mejoramiento de trigo: un enfoque multidisciplinario*. Editores: Kohlí, M. M., Diaz, M. y Castro, M. Centro Internacional de mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT)-Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA). La Estanzuela, Colonia, Uruguay, 2001. 37-42.
 - Kohli, M. M. 1995. Conceptos básicos en el manejo de enfermedades de cultivos. En: *Curso de manejo de enfermedades del Trigo*. Editores: Coolí, M. M., Annone, J. G. y García, R. Centro Internacional de Capacitación INTA-CIMMYT. Pergamino, Buenos Aires, Argentina.
 - Kohli, M., Mehta, y Ackermann, M. 1992. Spread of tan spot in the Southern Cone Region of South America. In: *Franch. L., Krupinsky, J., Mc Mullen, M. eds. Advances in tan Spot. Proceedings of the Second International Tan Spot Workshop North Dakota State University, Fargo, ND*, pp. 86-90.
-

-
- Kropp, B.R. 1990. Variation in acid phosphatase activity among progeny from controlled crosses in the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor*. Can. J. Bot. 68: 864-866.
 - Krupinsky, J. M. 1987. Pathogenicity on wheat of *Pyrenophora tritici-repentis* isolated from *Bromus inermis*. Phytopathology. 77: 760-765.
 - Krupinsky, J. M. 1992_a. Aggressiveness of isolates *Pyrenophora tritici-repentis* obtained from wheat grown under different field cultural practices. Advances in tan Spot. Proceedings of the Second International Tan Spot Workshop North Dakota State University, Fargo, ND, pp. 50-55.
 - Krupinsky, J. M. 1992_b. Aggressiveness of isolates *Pyrenophora tritici-repentis* obtained from wheat in the northern Great Plains. Plant Disease. 76: 87-91.
 - Krupinsky, J. M. 1992_c. Grass Host of *Pyrenophora tritici-repentis*. Plant Disease. 76: 92-95.
 - Kunoh, H. H., Yamaoka, N., Yoshioka, H. y Nicholson, R. L. 1988. Contact tropism by *Erysiphe graminis* release of esterase. Internacional Congreso of Plant Pathology, S., Kyoto, Japón. 235 pp.
 - Lamari, L. and Bernier, C.C. 1989_a. Evaluation of wheat lines and cultivars to tan spot (*Pyrenophora tritici-repentis*) based on type lesions. Canadian Journal of Plant Pathology. 11: 49-56.
 - Lamari, L. and Bernier, C.C. 1989_b. Virulence of isoaltes of *Pyrenophora tritici-repentis* on 11 wheat cultivars and cytology of the differential host reactions. Canadian Journal of Plant Pathology. 11: 284-290.
 - Lamari, L. y Gilbert, J. 1998. Toward a coherent model of host-pathogen interactions in tan spot of wheat: An epilogue to the Third International to Workshop on Tan Spot of wheat. Canadian Journal of Plant Pathology. 20: 440-443.
 - Lamari, L., Gilbert, J. and Tekauz, A. 1998. Race differentiation in *Pyrenophora tritici-repentis* and survey of physiologic variation in western Canada. Canadian Journal of Plant Pathology. 20: 396-400.
 - Lamari, L., Mc Callum, B. D. y De Pauw, R. M. 2005. Forensic pathology of Candian bread wheat: The case of tan spot. Phytopathol. 95: 144-152.
 - Lamari, L., Sayoud, R., Boulif, M. and Bernier, C. C. 1995. Identification a new race in *Pyrenophora tritici-repentis*: implications for the current pathotype classification system. Canadian Journal of Plant Pathology. 17: 312-318.

-
- Lamari, L., Strelkov, S. E. Yahyaoui, Orabi, J. y Smith, R. B. 2003. The identification of two new races of *Pyrenophora tritici-repentis* from the host center of diversity confirms a one to one relationship in tan spot of wheat. *Phytopathology*. 93: 391-396.
 - Laterell, F. M. 1975. Phenotypic stability of pathogenic races of *Pyricularia grisea*, and its implications for breeding of blast resistant varieties. *Proc. Semin. Horiz. Resist. Blast Disease. Proc. Symp. Int. Rice. Res. Inst. The Johns Hopkins Press, Baltimore*. 199-234.
 - Li, B. y Sutton, J. 1995. Evaluation of leaf associated microorganisms for biocontrol on tan spot in wheat foliage. *Fitopatologia Brasileira*. 20: 545-552.
 - León, J. 1968. Fundamentos botánicos de los cultivos tropicales. *Inst. Interamericano de Ciencias Interamericano de Cs. Agrícolas, OEA, Costa Rica*. Cap. IV.
 - Lima, J. A. S., Martins, L. S. S. y Tavares, S. C. C. 1997. Caracterização isoenzimática de quinze isolados de *Botryodiplodia theobromae* Pat. provenientes de diferentes hospedeiros. *Fitopatologia Brasileira*. 22: 322 (Resumo).
 - Lima, M. F. L. y Menezes, M. 2002. Estudo comparativo de isolados de *Colletotrichum graminicola* a través de análise electroforética de padrões proteicos e isoenzimáticos. *Fitopatologia Brasileira*. 27: 012-016.
 - Linhares, A. J. y da Luz, W. C. 1994. Detection of *Drechslera tritici-repentis* on wheat seeds from Mato Grosso do Sul. *Fitopatologia Brasileira*. 19 (Suplemento): 298.
 - Loughman, R., Wilson, R. E., Roake, J. E., Platz, G. J., Rees, R. G. y Ellison, E. W. 1998. Crop management and breeding for control of *Pyrenophora tritici-repentis*, causing yellow spot of wheat in Australia. In: *Heminthosporium Blights of wheat: Spot Blotch and Tan Spot*. Duveiller, E., Dubin, H. J., Reeves, J. y Mc Nab, A. (eds.). CIMMYT, Mexico, D.F. Mexico. 10-17
 - Lu, T. H. y Groth, J. V. 1987. Isozyme detection and variation in *Uromyces appendiculatus*. *Can. J. of Botany*. 66:885-890.
 - Luz da, W. C. and Hosford, R. M. Jr. 1980. Twelve *Pyrenophora trichostoma* races for virulence to wheat in the central plains of North America. *Phytopathology*. 70: 1193-1196.
 - Market, C. y Moller, F. 1959. Multiple forms of enzymes: Tissue, autogene and species specific patterns. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 45: 753-763.
 - Matsumura, A. T. S. 1991. Variabilidade intraespecífica quanto a patogenicidade, características de cultura y padrao isoenzimático em populações naturais de *Bipolaris sorokiniana* (*Helminthosporium*
-

-
- sativum*). Tese (Doutorado em Genética)-Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1991.
- Mc Cain, J. W. y Groth, J. V. 1992. Inter and intrapopulation isozymes variation in collections from sexually reproducing populations of the bean rust fungus, *Uromyces appendiculatus*. *Mycologia* 84 (3): 329-340.
 - Mc Donald, B. A. y Mc Dermott, J. M. 1993. Population genetics of palnt pathogenic fungi. *Bioscience*. 43: 311-319.
 - Mehta, y. R. 2000. Genetic variation between the *Pyrenophora tritici-repentis* isolates from wheat. *Fitopatología Brasileira*. 25 (Suplemento).
 - Mehta, Y. R. y Gaudencio, R. A. 1991. The effects of tillage practices and crop rotation on the epidemiology of some major wheat diseases. In: D. F. Saunders (ed). *Wheat for the nontraditional, Warm Areas*. Mexico, D. F. CIMMYT.
 - Mehta, Y. R., Mehta, A and Riede, C. R. 2004. Molecular and pathogenic variability of *Pyrenophora tritici-repentis* isolates causing tan spot of wheat in the state of Paraná, Brazil. *Summa Phytopathologica*, 30: 436-444.
 - Micales, J. A., Alfenas, A. C. y Bonde, M. R. 1998. Isoenzimas na taxonomia e na genética de fungos. In. Alfenas, A.C. (Ed.) *Electroforese de isoenzimas e proteínas afins*. Vicososa: Editora UFV. 477-502.
 - Micales, J. A., Bonde, M. R. y Peterson, G. L. 1986. The use of isozyme análisis in fungal taxonomy and genetics. *Mycotaxon* 27: 405-449.
 - Misra, A. P. y Singh, R. A. 1972. Pathogenic differences among three isolates of *Helminthosporium tritici-repentis* and the performance of wheat varieties against them. *Indian Phytopathology*. 25: 350-353.
 - Mihtra, M. A. 1934. Leaf spot disease of wheat caused by *Helminthosporium tritici-repentis* Died. *Indian. J. Agric. Sc.* 4: 692-700.
 - Moreno, M.V., Stenglein, S., Perelló, A. E. y Balatti, P. 2005. Herramientas moleculares (ISSR) para evaluar la diversidad de *Drechslera tritici-repentis*. XIII Congreso Latinoamericano de Fitopatología y III Taller de la Asociación Argentina de Fitopatólogos. 19-22 de abril de 2005, Villa Carlos Paz, córdoba, Argentina. 439
 - Negroni, P. 1938. Morfología y biología de los hongos. Técnicas Micológicas. El Ateneo, Buenos Aires, 299 pp.
 - Odvody, G. and Boosalis, M. G. 1982. An efficient conidial production technique for *Pyrenophora trichostoma*. In Hosford, R. M.
-

-
- Jr. ed. Tan Spot of wheat and Related Diseases workshop, North Dakota State University, Fargo ND. 28.
- Palti, J. 1981. Cultural practices and infectious crop diseases. Springer-Verlag, New York. 243 pp.
 - Pascholati, S. F., Deising, H., Leite, B., Anderson, D. y Nicholson, R. L. 1993. Cutinase e non-specific esterase activities in the conidial mucilage of *Colletotrichum graminicola*. Physiological and Molecular Plant Pathology. 42: 37-51.
 - Perelló, A. E. 1998. Interacciones entre la microflora saprotrófica y patógenos foliares del filoplaneo del trigo. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, Argentina. 232 pp.
 - Perelló, A. E., Moreno, M. V., Simón, M. R. and Sisterna, M. 2003. Tan spot of wheat (*Triticum aestivum* L.) infection at different stages of crop development and inoculum type. Crop Protection. 22: 157-169.
 - Perelló, A. Mónico, C. Moreno, MV, Simón, MR and Cordo, C.. 2006_a. *Trichoderma* spp. isolates as potential biological agents for foliar wheat diseases under field conditions in Argentina. Biocontrol Science and Technology 16(8): 803-813.
 - Perelló, A., Moreno, MV, Mónico, C., Simón, MR and Cordo, C. 2006_b. Antagonistic effect of *Trichoderma* spp. on *Septoria tritici*, causal agent of leaf spot of wheat under field conditions. BioControl (in press).
 - Perelló, A., Mónico, C. Simón, M. DalBello, G 2003. Biocontrol efficacy of *Trichoderma* isolates for tan spot of wheat in Argentina. Crop Protection, 22 (9): 1099-1106.
 - Perelló, A., Simón, MR., AM Arambarri and C. Cordo. 2001_a. Greenhouse screening of the saprophytic resident microflora for control leaf spots of wheat (*Triticum aestivum* L.) Phytoparasitica 29 (4): 341-351.
 - Perelló, A., Simón, MR and Arambarri, AM. 2002. Interactions between foliar pathogens and the saprophytic microflora of wheat (*Triticum aestivum* L.) phylloplane. Journal of Phytopathology 150, 232-243, 2002.
 - Perelló, A., Simón, MR, Sisterna, M., Cordo, C. and Arambarri, AM. 2001_b. Microflora of wheat (*Triticum aestivum* L.) in Buenos Aires Province (Argentina) and its possible significance in the biological control of foliar pathogens. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz 108: 459-471.
 - Petrunak, D. M. y Chrits, B. J. 1992. Isozyme variability in *Alternaria solani* and *A. alternate*. Phytopathology. 82 (11): 1343-1347.
-

-
- Pfender, W. F., Zhang, W. y Nus, A. 1989. Field performance and greenhouse assay of fungi for biocontrol of residue borne *Pyrenophora tritici-repentis*. *Phytopathology* 79: 1152.
 - Postnifova, E. N. y Khasanov, B. A. 1998. Tan spot in central Asia. In: *Heminthosporium Blights of wheat: Spot Blotch and Tan Spot*. Duveiller, E., Dubin, H. J., Reeves, J. y Mc Nab, A. (eds.). CIMMYT, Mexico, D.F. Mexico. 107-113.
 - Rajaram, S. 2001. Mejoramiento Internacional de Trigo. Palabras de Apertura. Kohli, M. M., Diaz, M. y Castro, M. (eds). 2003. Estrategias y Metodologías utilizadas en el mejoramiento de trigo. Seminario Internacional, La Estanzuela, Uruguay. CIMMYT- INIA. 408 pp.
 - Raymond, P. J. y Bockus, W. W. 1982. An in vitro technique for profuse sporulation of *Drechslera tritici-repentis*. (Abstr). *Phytopathology*. 72: 934.
 - Rayner, R. W. 1970. A Mycological Colour Chart. Common. Mycol. Inst. Kew, Surrey and Brit. Mycol. Soc.
 - Rees, L. G. y Platz, G. J. 1979. The occurrence and control of yellow spot of wheat in North-Eastern Australia. *Aust. J. Agric. Res.* 19: 369-372.
 - Rees, L. G. y Platz, G. J. 1980. The epidemiology of yellow leaf spot of wheat in Southern Queensland *Aust. J. Agric. Res.* 31: 259-267.
 - Rees, L. G. y Platz, G. J. 1983. Effects of yellow spot of wheat in Southern Queensland. *Aust. J. Agric. Res.* 34: 39-46.
 - Rees, L. G. y Platz, G. J. 1992. Tan spot and its control. Some experiences. *Advances in Tan Spot. Proceedings of the Second International Tan Spot Workshop* North Dakota State University, Fargo, ND, pp. 1-9.
 - Rees, L. G., Platz, G. J. y Mayer, R. J. 1982. Yield losses in wheat from yellow spot: comparison of estimates derived from single tillers and plots. *Aust. J. Agric. Res.* 33: 899-908.
 - Reddy, M. N. y Stahmann, M. A. 1972. Isozyme patterns of *Fusarium* species and their significance in taxonomy. *Phytopathology* Z. 74: 115-125.
 - Reynolds, M., Weinhold, A. R. y Morris, T. J. 1983. <comparison of anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* by polyacrilamide gel electrophoresis of soluble proteins. *Phytopathol.* 73: 903-906.
 - Robinson, R. A. 1987. Host management in crop pathosystem. Mc Millan Publishing Company, New York, USA. 763 pp.
 - Rohlf, J. F. 1998. NTSYS-pc. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Versão 2.0, University New York. Applied Biostatistic Inc.
-

-
- Russell, D. F. y Einsensmith, S. P. 1986. MSTAT statistical software for Agronomists. Agronomy, Abs.
 - Sah, D. N. y Ferhmann, H. 1992. Virulence patterns of geographically differing isolates of *Pyrenophora tritici-repentis* and sources of resistance in wheat. Plant Dis. 76: 712-716.
 - Sanchez, C., García-Gomez, M. L., Pliego-Alfaro, F. y Heredia, A. 1993. Peroxidase activities and isozyme profiles associated with development of avocado (*Persea Americana* M.) leaves at different ontogenetic stages. J. Plant Growth regul. 12: 95-100.
 - Santos, A. M. P. V. dos. 1996. Análise genotípica de *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Shoem., fitopatógeno de trigo. Dissertação de Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
 - Santos, A. M. P. V. dos, Matsumura, A. T. y Lopes, P. T. C. 2004. Isoesterasic characterization in *Bipolaris sorokiniana* isolates, wheat pathogen. Summa Phytopatologica. 30: 421-426.
 - Sarova, J., Hanzalova, N. y Barlos, P. 2002. *Pyrenophora tritici-repentis* one the most important leaf spot pathogens in the Czech Republic. 4th International wheat Tan Spot and Spot Blotch workshop. July 21-24, 2002. Bemidji, M. N., North Dakota, State University.
 - Schreiber, M. M. 1987. Integrated Pest Management Systems; A Research Approach Research Bulletin 985 Purdue, University.
 - Schilder, A. M. C. y Bergstrom, G. C. 1990. Variation in virulence within the population of *Pyrenophora tritici-repentis* in New York. Phytopathology. 80: 84-90.
 - Schilder, A. M. C. y Bergstrom, G. C. 1992. The dispersal of conidia and ascospores of *pyrenophora tritici-repentis*. Adv. In Tan Spot Research. Proceedings of the Second International Tan Spot workshop. 96-99.
 - Schilder, A. M. C. y Bergstrom, G. C. 1994. Infection of wheat seed by *Pyrenophora tritici-repentis*. Can. J. Bot. 72: 510-519.
 - Sharp, E. L., Sally, B. K. y Mc Neal, F. H. 1976. Effect of *Pyrenophora* wheat leaf blight on the thousand kernel weight of 30 spring wheat cultivars. Plant Disease, 60: 135-138.
 - Schöeter, J. 1879. Entwickelungeiniger Rostpilze. Beitr. Biol. Pflanzen. 3: 69-70.
 - Shipton, W. A. y Mc Donald, w. c. 1970. The electrophoretic patterns of proteins extracted from spores and mycelium of two *Drechslera* species. Canadian Journal of Botany. 48: 1000-1002.
 - Shoemaker, R. A. 1959. Nomenclature of *Drechslera* and *Bipolaris*, grass parasites segregated from *Helminthosporium*. Can. J. Botany. 37: 879-887.
-

-
- Shoemaker, R. A. 1962. *Drechslera* Ito. Canadian Journal of Botany, 40: 809-908.
 - Sim, T. y Willis, W. G. 1982. Kansas wheat disease losses. Kansas State University, Manhattan, USA.
 - Simón, M. R. 2006. Factores que modifican la expresión de la resistencia a manchas foliares. In: A Todo Trigo conocimiento y producción. Actas de Congreso, 18 y 19 de mayo de 2006, Mar del Plata, Argentina. 167-170.
 - Sneath, P. H. A. y Sokal, R. R. 1973. Numerical taxonomy. W. H. Freeman and Company. San Francisco, USA.
 - Stakman, E. C. 1938. The problem of specialization and variation in pathogenic fungi. Genetica. 18: 372-389.
 - Strelkov, S. E., Lamari, L., Sayoud, R. y Smith, R. B. 2002. Comparative virulence of chlorosis-inducing races of *Pyrenophora tritici-repentis*. Can. J. Plant. Pathol. 24: 29-35.
 - Tekauz, A. 1976. Distribution, severity and relative importance of leaf spot diseases wheat in Western Canada en 1974. Can. Plant. Dis. Surv. 56: 36-40.
 - Texeira, H., Vieira, M. G. G. C. y Machado, J. C. 2004. Marcadores morfofisiológicos e isoenzimáticos na análise da diversidade genética de isolados de *Acremonium strictum*. Fitopatologia Brasileira. 29: 413-418.
 - Thompson, J. N. y Burdon, J. J. 1992. Gene-for-gene coevolution between plants and parasites. Nature 360: 121-125.
 - Urben, A. f., y Oliveira, a. s. 1999. Caracterização morfológica em diferentes isoaldos de *Fusarium moniliforme* infectando sementes transgênicas de milho procedentes dos Estados Unidos. Fitopatologia Brasileira. 24: 339 (Resumo)
 - Valim-Labres, M. E., Porto, M. D. M. y Matsumura, A. T. S. 1997. Effects of host resistance on the isozymatic patterns of *Bipolares sorokiniana* (Dematiaceae, Moniliales). Brazilian Journal of Genetics. 20 (4): 541-545.
 - Vanderplank, J. E. 1978. Genetic and molecular basis of plant pathogenesis. Springer-Verlag, Berlin, 167 pp.
 - Vanderplank, J. E. 1984. Disease resistance in plants. 2nd de, Academic Press. Inc. Orlando. FL. 194 pp.
 - Vazquez, J. F., Sanchez-Yelamo, M. D. y Carrillo, J. M. 2000. Marcadores Morfológicos y Bioquímicos. Marcadores Genéticos en la Mejora Vegetal. Departamento de Biología, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid. 25-89.
 - wakulinsky, W., Kachlicki, P., Sohiczeuski, P., Schollenberger, M., Zamorski, C. Z., Lotocka, B. y Sarova, J. 2003. Catenarin

-
- Production by isolates of *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechsler and its antimicrobial activity. J. Phytopathol. 151 (2).
- Watkins, J. E., Odvody, G. N., Boosalis, M. G. y Partridge, J. E. 1978. An epidemic of tan spot of wheat in Nebraska. Plant Dis. Reporter. 62: 132-134.
 - Webster, R. K., Bolstad, J., Wick, E.M. y Hall, D. H. 1976. Vertical distribution and survival of *Sclerotium oryzae* under various tillage methods. Phytopathology. 66: 97-101.
 - Wendel, J. F. y Weeden, N. F. 1989. Genetics in Plant Isozymes. In: Soltis, D. E. y Soltis, P. S. (eds.) Isozymes in Plant Biology. Dioscorides Press, Hong Kong. 42-72.
 - Whemeyer, L. E. 1949. Studies in the genus *Pleospora*. Mycologia, 41: 565-593.
 - Whemeyer, L. E. 1954. Perithecial development in *Pleospora trichostoma*. Botan. Gaz. 115: 297-310.
 - Wiese, M. V. 1987. Compendium of wheat diseases. The American Phytopathological Society, St. Paul, M. N. 106 pp.
 - Wrigth K. H. y Sutton, J. C. 1990. Inoculation of *Pyrenophora tritici-repentis* in relation to epidemics of tan spot of winter wheat in Ontario. Can. J. Plant Pathology. 12: 149-157.
 - Wolf, F. A. y Wolf, F. T. 1947. The Fungi. Vol I y II. New York: John Wiley y Sons, Inc. Chapman y Hall, Limited, London. 438 y 538 pp.
 - Yeh F.C. y Rong-cai Y. 1999. POPGENE 3.3 versión 1.2.1. <ftp://ftp-microsoft.com/softlib/MSLFILES/HPGL.EXE>
 - Zadoks, J. C. y Schein, R. D. 1979. Epidemiology and plant disease management, New York, Oxford University. Press. 427.
 - Zappacosta, D. 2006. Biotecnología aplicada al control de enfermedades fúngicas y bacterianas. Capítulo 9, Biotecnología y Mejoramiento Vegetal. 323-334